



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**VALIDADE E ADEQUAÇÃO DA VACINAÇÃO PARA O  
PAPILOMA VÍRUS HUMANO EM RELAÇÃO COM A INFECÇÃO  
ORAL E OROFARÍNGEA**

Trabalho submetido por  
**Inês Isabel Simão Oliveira**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**setembro de 2018**





**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**VALIDADE E ADEQUAÇÃO DA VACINAÇÃO PARA O  
PAPILOMA VÍRUS HUMANO EM RELAÇÃO COM A INFEÇÃO  
ORAL E OROFARÍNGEA**

Trabalho submetido por  
**Inês Isabel Simão Oliveira**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor José Silva Marques**

**setembro de 2018**



“Eles não sabem, nem sonham,  
que o sonho comanda a vida,  
que sempre que um homem sonha  
o mundo pula e avança  
como bola colorida  
entre as mãos de uma criança.”

*António Gedeão*

Aos meus pais, sem eles este sonho não teria sido possível.



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Professor Doutor José Silva Marques, por me ter cativado pela área de Cirurgia e Medicina Oral e ensinado tanta coisa. Um muito obrigado também pelo acompanhamento e ajuda nesta última fase da minha jornada académica.

A todos os professores que me ensinaram tudo aquilo que sei e que, de uma forma ou de outra, marcaram a minha aprendizagem.

Aos meus pais, Paula e Jorge, a quem devo tudo aquilo que sou. Por me defenderem e amarem incondicionalmente, me darem todas as oportunidades que tinham ao seu alcance e apoiarem nas minhas escolhas. E por estarem sempre presentes. Nunca conseguirei agradecer-vos o suficiente.

Ao meu irmão, Pedro, por toda a ajuda e apoio que me deu ao longo da minha vida e destes anos de estudo. O orgulho que sinto por ti não tem limites. A mana vai estar sempre aqui para ti.

Aos meus avós, de quem sinto falta todos os dias sem excepção. Gostaria que estivessem aqui para presenciar este momento tão importante na minha vida. Muito obrigado por terem ajudado a fazer de mim a pessoa que sou hoje.

Aos meus amigos, aqueles que me acompanham desde os primeiros dias de escola e aos que fiz nesta casa. Por todos os momentos de diversão e companheirismo e pelo apoio que sempre demonstraram. Vamos continuar a crescer juntos.





## **RESUMO**

O vírus do papiloma humano tem vindo a despertar a atenção da população nos últimos anos. Graças ao desenvolvimento da ciência, foi possível descodificar o seu genoma e descobrir uma enorme variedade de genótipos que são responsáveis por diversas lesões, tanto benignas como malignas. A sua associação com diversos cancros humanos, dos quais se destaca o cancro do colo do útero, impeliu a descoberta de um método preventivo eficaz para a infeção causada por este vírus. Foram assim criadas vacinas profiláticas específicas para os HPV mais cancerígenos.

Mais recentemente descobriu-se a ligação do HPV com a infeção oral e da orofaringe, incluindo o cancro da orofaringe, cuja incidência tem vindo a aumentar. Neste momento, as vacinas existentes não têm indicação das autoridades competentes para prevenir tais patologias, mas estudos clínicos apropriados poderão validar a adequação das mesmas à prevenção destas infeções num futuro próximo. Se assim for, as guidelines da vacinação para o HPV poderão mudar a uma escala global, até mesmo com a introdução de uma nova vacina que contenha os genótipos encontrados na cavidade oral.

A presente dissertação aborda os conhecimentos sobre o papilomavírus humano, as formas de obtenção de amostras do vírus para análise assim como os métodos de deteção do DNA viral, as diversas manifestações da infeção por HPV, formas de prevenção, a terapêutica e a vacinação.

**Palavras-chave:** HPV, Vacinação, Cavidade Oral, Orofaringe



## **ABSTRACT**

The human papillomavirus has been capturing the attention of the general population in recent years. Thanks to scientific development, it was possible to decode its genome and discover a wide variety of genotypes that are responsible for several lesions, both benign and malignant. HPV's association with a number of cancers, of which cervical cancer stands out, has urged the discovery of an effective preventive method for the infection this virus causes. Prophylactic vaccines for the most cancerous HPV types were then created.

More recently, the connection between HPV and oral and oropharyngeal infection was found, including oropharyngeal cancer, the incidence of which has been increasing. At the present time, the existing vaccines do not have indication by the competent authorities to prevent such pathologies, but appropriate clinical studies might validate their adequacy to the prevention of these infections in the near future. If so, the guidelines for HPV vaccination might change on a global scale, going as further as introducing a new vaccine that contains the genotypes found in the oral cavity.

The present dissertation approaches the knowledge about the human papillomavirus, the ways of obtaining virus samples for analysis as well as the methods of viral DNA detection, the various manifestations of HPV infection, prevention techniques, therapeutics and vaccination.

**Key-words:** HPV, Vaccination, Oral cavity, Oropharynx



## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
ÍNDICE DE TABELAS .....	8
LISTA DE SIGLAS .....	9
I – INTRODUÇÃO .....	11
II – DESENVOLVIMENTO .....	14
1. O PAPILOMAVÍRUS HUMANO .....	14
1.1. Estrutura viral e organização genómica.....	14
1.2. Taxonomia.....	16
1.3. Replicação Viral .....	19
1.4. Fatores de risco para infeção e carcinogénese.....	21
1.5. Transmissão .....	21
1.6. Epidemiologia.....	22
2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE .....	23
3. MÉTODOS DE DETEÇÃO DE HPV .....	26
3.1. Hibridização <i>in situ</i> .....	29
3.2. Southern blot .....	30
3.3. Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) .....	31
3.4. Microarray .....	32
3.5. Imunohistoquímica do p16 .....	32
4. MANIFESTAÇÕES DA INFEÇÃO POR HPV .....	33
4.1. PATOLOGIAS BENIGNAS .....	34
4.1.1. Verrugas cutâneas.....	34
4.1.1.1. Verrugas comuns .....	34
4.1.1.2. Verrugas plantares .....	35
4.1.1.3. Verrugas planas e intermédias.....	36
4.1.2. Epidermodisplasia <i>verruciformis</i> .....	36
4.1.3. Condiloma <i>acuminatum</i> .....	37
4.1.4. Hiperplasia epitelial focal.....	37
4.1.5. Papilomatose respiratória recorrente .....	38
4.2. PATOLOGIAS PRÉ MALIGNAS E MALIGNAS .....	39
4.2.1. Leucoplasia.....	39
4.2.2. Eritroplasia .....	39
4.2.3. Fibrose submucosa oral .....	40
4.2.4. Líquen plano oral.....	40

4.2.5. Cancro anal .....	41
4.2.6. Cancro vulvar .....	41
4.2.7. Cancro peniano .....	41
4.2.8. Cancro cervical .....	41
4.2.9. Esófago de Barrett .....	43
4.2.10. Carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço e a sua relação com o HPV .....	43
4.2.10.1. Tratamento para carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço .....	48
5. PREVENÇÃO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS .....	50
5.1. Prevenção primária .....	50
5.2. Prevenção secundária .....	50
5.3. Prevenção terciária .....	51
6. TERAPÊUTICA .....	52
6.1. Terapêutica farmacológica .....	52
6.2. Terapêutica cirúrgica .....	52
6.3. Terapêutica de imuno-modulação .....	53
6.4. Terapêutica antioxidante .....	53
7. VACINAÇÃO .....	55
7.1. Vacina Quadrivalente (Gardasil®) .....	56
7.2. Vacina Bivalente (Cervarix®) .....	56
7.3. Vacina Nonavalente (Gardasil 9®) .....	57
7.4. Vacinação no sexo masculino .....	58
7.5. Portugal – Plano Nacional de Vacinação .....	59
7.6. Perspetivas futuras .....	60
7.7. Validade e adequação da vacinação para a infeção oral e da orofaringe .....	61
III – CONCLUSÃO .....	64
IV – BIBLIOGRAFIA .....	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	– Organização genómica do HPV tipo 16 com as suas 3 regiões funcionais .	14
<b>Figura 2</b>	– 5 géneros que agrupam os tipos de HPV .....	15
<b>Figura 3</b>	– O ciclo de vida do HPV .....	18
<b>Figura 4</b>	– Exame de despiste de cancro oral com 8 passos que deve ser realizado em cada consulta de Medicina Dentária .....	22
<b>Figura 5</b>	– Exemplo de biópsia numa lesão da língua .....	23
<b>Figura 6</b>	– Exemplo de citologia esfoliativa com Cytobrush® .....	23
<b>Figura 7</b>	– Esquema de classificação dos testes para deteção do HPV .....	25
<b>Figura 8</b>	– Correlação entre os métodos de deteção de HPV consoante o estágio de infeção do vírus .....	27
<b>Figura 9</b>	– Esquema representativo do método de hibridização in situ .....	28
<b>Figura 10</b>	– Esquema representativo do método de southern blot .....	29
<b>Figura 11</b>	– Esquema representativo de uma reação de polimerização em cadeia .....	30
<b>Figura 12</b>	– Verruga comum .....	33
<b>Figura 13</b>	– Myrmecia .....	33
<b>Figura 14</b>	– Verruga plana .....	34
<b>Figura 15</b>	– Hiperplasia epitelial focal .....	36
<b>Figura 16</b>	– Eritroplasia no bordo lateral da língua .....	38
<b>Figura 17</b>	– A progressão da infeção por HPV para cancro cervical .....	40
<b>Figura 18</b>	– Cobertura vacinal contra o HPV por coorte de nascimento em Portugal, avaliado em Dezembro de 2015 .....	58

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Vantagens e desvantagens dos métodos moleculares de detecção de HPV .....	25
<b>Tabela 2</b>	– Categoria T clínica e patológica de cancro da orofaringe HPV+ .....	43
<b>Tabela 3</b>	– Categoria N clínica de cancro da orofaringe HPV+ .....	43
<b>Tabela 4</b>	– Categoria N patológica de cancro da orofaringe HPV+ .....	43
<b>Tabela 5</b>	– Estágio anatómico e grupos de prognóstico para agrupamento TNM clínico de cancro da orofaringe HPV+ .....	44
<b>Tabela 6</b>	– Estágio anatómico e grupos de prognóstico para agrupamento TNM patológico de cancro da orofaringe HPV+ .....	44
<b>Tabela 7</b>	– Categoria T de cancro da cavidade oral .....	45
<b>Tabela 8</b>	– Categoria N patológica de nódulos linfáticos regionais .....	45
<b>Tabela 9</b>	– Categoria M para metástases à distância .....	46
<b>Tabela 10</b>	– Grupos de estadiamento .....	46



## LISTA DE SIGLAS

CDC – Centers for Disease Control and Prevention  
CDK – Ciclina quinase dependente  
CIN – Neoplasia intraepitelial cervical  
DNA – Ácido desoxirribonucleico  
DST – Doenças sexualmente transmissíveis  
EGCG – Epigallocatequina-3-galato  
EMA – European Medicines Agency  
EUA – Estados Unidos da América  
EV – Epidermodisplasia *verruciformis*  
FDA – Food and Drug Administration  
HPV – Papilomavírus humano  
HSIL – Lesões intraepiteliais escamosas de alto grau  
ICTV – Comité Internacional de Taxonomia de Vírus  
IgG – Imunoglobulina G  
LCR – Região longa de controlo  
LSIL – Lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau  
NCR – Non-coding region  
ORF – Unidade de tradução  
PCR – Reação de polimerização em cadeia  
PNV – Plano Nacional de Vacinação  
QRt – Químio-radioterapia  
QT – Quimioterapia  
RNA – Ácido ribonucleico  
RT – Radioterapia  
sIgA – Imunoglobulina A secretora  
TNM – Classificação de tumores malignos  
URR – Upstream regulatory region  
VLP – Virus like particles  
WHO – Organização Mundial de Saúde



## I – INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV), da família *Papillomaviridae*, é o responsável por uma infecção sexualmente transmissível, sendo mais conhecido como a causa do cancro do colo do útero. (D’Souza, Cullen, Bowie, Thorpe, & Fakhry, 2014)

É um DNA-vírus que causa proliferação epitelial em mucosas e superfícies cutâneas. De acordo com a sua capacidade de provocar lesões benignas ou malignas, pode ser classificado em HPV de baixo risco (ou não oncogénico) e alto risco (ou oncogénico), respetivamente. A maior parte das infeções são benignas e autolimitadas, dado que o sistema imunitário consegue controlá-las. As infeções de alto risco são as que normalmente causam os cancros. (Braaten & Laufer, 2008; Souto, Pedro Borgo Falhari, & Divino da Cruz, 2005)

Nos anos 70, Harald zur Hausen provou que a infeção por HPV (particularmente os tipos 16 e 18) aumentava o risco dos doentes virem a desenvolver cancro, abrindo caminho para a descoberta de todas as potencialidades deste vírus. Inclusive, zur Hausen ganhou o prémio Nobel pelo seu trabalho inovador nesta área. (Nour, 2009)

Sabemos hoje que o HPV está associado a várias neoplasias anogenitais, tais como os carcinomas anais e vários cancros vaginais, vulvares e do pénis, bem como o cancro da orofaringe. (Douglas R Lowy, 2016) O aumento do número de parceiros sexuais ao longo da vida, bem como de comportamentos sexuais como o sexo oral e anal têm contribuído para a propagação da infeção oral e na orofaringe. (D’Souza et al., 2014)

Devido também à sequenciação do genoma humano, atualmente sabe-se que existem mais de 150 tipos de HPV, cerca de 40 destes transmissíveis por via sexual e 15 responsáveis pelo cancro do colo do útero. (Doorbar, Egawa, Griffin, Kranjec, & Murakami, 2015) Os tipos 16 e 18 são os mais oncogénicos e provocam cerca de 70% dos cancros do colo do útero. (Douglas, 2016) Por sua vez, os tipos 6 e 11 causam, em 90% dos casos, verrugas genitais ou condilomas. (D. R. Lowy & Schiller, 2006) Associados à cavidade oral, são 25 genótipos: HPV-1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35, 40, 45, 52, 55, 57, 58, 59, 69, 72 e 73. (Castro & Bussoloti Filho, 2006) Os HPV tipo 13 e tipo 32 não são encontrados em nenhuma outra parte do corpo humano excepto na cavidade oral. (Ronell E.; Castañeda-Castaneira, Raúl E.; Molina-Frechero, Nelly; Pérez-Rodríguez, 2006)

A prevalência da infecção por este vírus é mais comum em mulheres jovens sexualmente ativas, atingindo o pico em mulheres abaixo dos 25 anos, e diminui progressivamente a partir dos 25-30 anos para o resto da vida. A infecção nos homens é menos explorada, mas aparenta ter associados os mesmos fatores de risco que o sexo feminino. (Schiller, Markowitz, Hildesheim, & Lowy, 2018) O homem é também considerado como o principal reservatório deste vírus (Syrjänen, Gissman & Koss, 1987)

Em 2012, a Organização Mundial de Saúde apurou que aproximadamente 270.000 mulheres morreram de cancro do colo do útero e que mais de 85% dessas mortes ocorreram em países em vias de desenvolvimento. Estimou também a existência de 529.800 novos casos de cancro cervical nesse mesmo ano a uma escala global. (World Health Organization, 2018) As estatísticas mais recentes apontam para que anualmente surjam 630.000 novos casos de cancro associado ao HPV a nível mundial. O papilomavírus é assim responsável por 4.5% de todos os cancros. (de Martel, Plummer, Vignat, & Franceschi, 2017) O CDC perspectiva ainda que 80% da população mundial terá uma infecção por HPV na sua vida. (Centers for Disease Control and Prevention, 2017)

A importância e impacto que este vírus e as infeções a ele associadas representam para a saúde pública não podem ser ignorados, pelo que foi necessário criar uma estratégia eficaz para a prevenção destas doenças (em particular as cancerígenas). (Castellsagué, 2008) A vacinação, que tem como princípio base fundamentos relacionados com a memória imunológica, é o único meio capaz de imunizar o ser humano para determinados agentes patogénicos específicos, bem como impedir e erradicar algumas doenças infecciosas. Obtém-se, assim, uma elevada eficácia na redução da morbilidade e mortalidade a longo prazo. (Plotkin & Plotkin, 2013)

Tornou-se então indispensável a criação de vacinas direcionadas para os tipos de HPV mais encontrados em cancros. Devido ao nexo de causalidade entre o HPV e o cancro do colo do útero, e à elevada incidência da doença, a maior parte das vacinas desenvolvidas centram-se na prevenção deste tipo de cancro. Ainda assim, tenciona-se que as mesmas abranjam também os cancros da orofaringe e do ânus, para reduzir a sua incidência que tem aumentado nos últimos anos. (Schiller et al., 2018)

Nos anos 90 iniciaram-se as pesquisas para a criação de uma vacina profilática para o vírus do papiloma humano e em 2004 foi comprovada a eficácia da primeira vacina, que visava o HPV tipos 16 e 18. Um ano depois, demonstrou-se a eficácia de

uma vacina mais completa para os tipos 6, 11, 16 e 18. (Carcopino, Henry, Olive, Boubli, & Tamalet, 2011) Em 2006 foi aprovada a primeira vacina e, desde então, tem havido um constante progresso na investigação de mais vacinas que abranjam o maior número possível de tipos do vírus. (Franco et al., 2012)

Como tal, esta monografia pretende avaliar a adequação da vacinação existente de momento, em particular em relação com a infeção oral e da orofaringe. Será aprofundado o conhecimento sobre o papilomavírus, a sua estrutura e mecanismo de infeção, métodos de deteção do mesmo, as patologias a ele associadas bem como as opções terapêuticas e de prevenção, explorando mais em profundidade a vacinação.

## II – DESENVOLVIMENTO

### 1. O PAPILOMAVÍRUS HUMANO

O papilomavírus começou por ser identificado no ano de 1933 em coelhos e foi considerado um vírus transmissível e que causava papilomas benignos. Só várias décadas mais tarde é que a comunidade científica começou a dar mais importância a este tema. Em 1977, Harald zur Hausen sugeriu a hipótese do HPV ter um papel importante no cancro do colo do útero e em 1978 foi descoberto HPV-5 em cancro da pele por Stefania Jablonska e Gerard Orth. Mais tarde, em 1983 e 1984, zur Hausen e os seus colaboradores identificaram com certeza os tipos 16 e 18 no cancro do colo do útero, levando a que no período de 12 anos de investigação, o HPV fosse reconhecido como carcinogénico. Anos mais tarde foi confirmada a carcinogenicidade do HPV-16 em relação com a orofaringe e, possivelmente, com a cavidade oral. (Morshed, Polz-Gruszka, Szymański, & Polz-Dacewicz, 2014)

Os papilomavírus pertencem à família *Papillomaviridae* e assim são classificados segundo o 7º relatório do Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) desde 1999. Por sua vez estes vírus dividem-se em géneros e em tipos. (Bernard et al., 2010)

#### 1.1. Estrutura viral e organização genómica

Os papilomavírus, apesar de terem um genoma variável consoante os tipos de HPV, partilham uma estrutura em capsídeo com simetria icosaédrica, com 50-60 nm de diâmetro. Não possuem envelope, são DNA de dupla cadeia circular e contêm aproximadamente 8000 pares de base. O capsídeo é constituído por 72 capsómeros e 2 proteínas estruturais essenciais de revestimento, a proteína L1 e a proteína L2. A proteína L1 é considerada a principal, tem um peso molecular de aproximadamente 56.000 *daltons* e corresponde a 80% das proteínas totais do capsídeo, perfazendo um total de 360 cópias. A proteína L2 é, por sua vez, uma proteína secundária que existe em menor quantidade e cujo peso molecular se aproxima dos 76.000 *daltons*. Ambas são

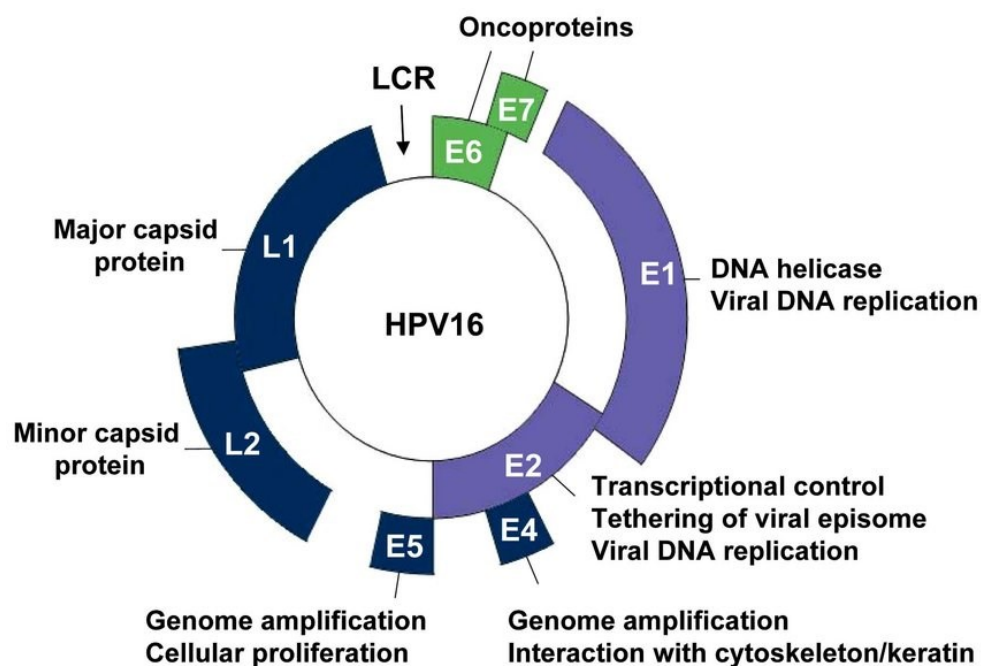
importantes pois influenciam a capacidade do vírus em provocar uma infecção. (Doorbar et al., 2015)

São vírus epiteliotrópicos, ou seja, que possuem afinidade por epitélios. As superfícies epiteliais são as que se encontram cobertas por mucosa, pele ou ambas, tais como a língua, boca, amígdalas, faringe, pênis, vagina e ânus. (Ronell E.; Castañeda-Castaneira, Raúl E.; Molina-Frechero, Nelly; Pérez-Rodríguez, 2006)

Os vírus de baixo risco são os HPV tipo 1-4, 6, 7, 9-15, 17, 19, 20-29, 32, 34, 36-38, 40-44, 46-51, 53-55, 57, 59-63, 65, 71, 72, 74-78, 80, 81, 83, 84, 86-91, 94 e 95. Os vírus de alto risco (oncogénicos) são os HPV tipo 5, 8, 12, 14, 16, 18-21, 24-26, 30, 31, 33-36, 39, 45, 47, 51-53, 56, 58, 59, 66, 67, 73, 82, 85, 92, 93 e 96. (Braaten & Laufer, 2008)

A sua organização genómica corresponde a 3 regiões: região E (*early*) e região L (*late*), que constituem as unidades de tradução – ORF's (*open reading frames*) e região longa de controlo - LCR (*long control region*), que também pode ser denominada de NCR (*non-coding region*) ou URR (*upstream regulatory region*). (Zheng & Baker, 2006) Na região E existem seis genes (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) que codificam proteínas com o mesmo nome, expressam-se precocemente e auxiliam na replicação (E1 e E2), transcrição do genoma (E2), ciclo celular (E2, E4 e E7), proliferação celular (E5, E6 e E7), controlo da apoptose (E2), modulação imune (E5) e modificação estrutural da célula infetada (E4, E5 e E6). Por sua vez, na região L existem apenas 2 genes (L1 e L2) que se expressam tardiamente e codificam proteínas estruturais essenciais para o capsídeo e para a transmissão viral e sobrevivência no meio ambiente. (Graham, 2010)

A região LCR, que contém cerca de 850 pb (10% do genoma do HPV), não tem função de codificação proteica mas está envolvida na replicação viral e expressão génica. (Zheng & Baker, 2006)



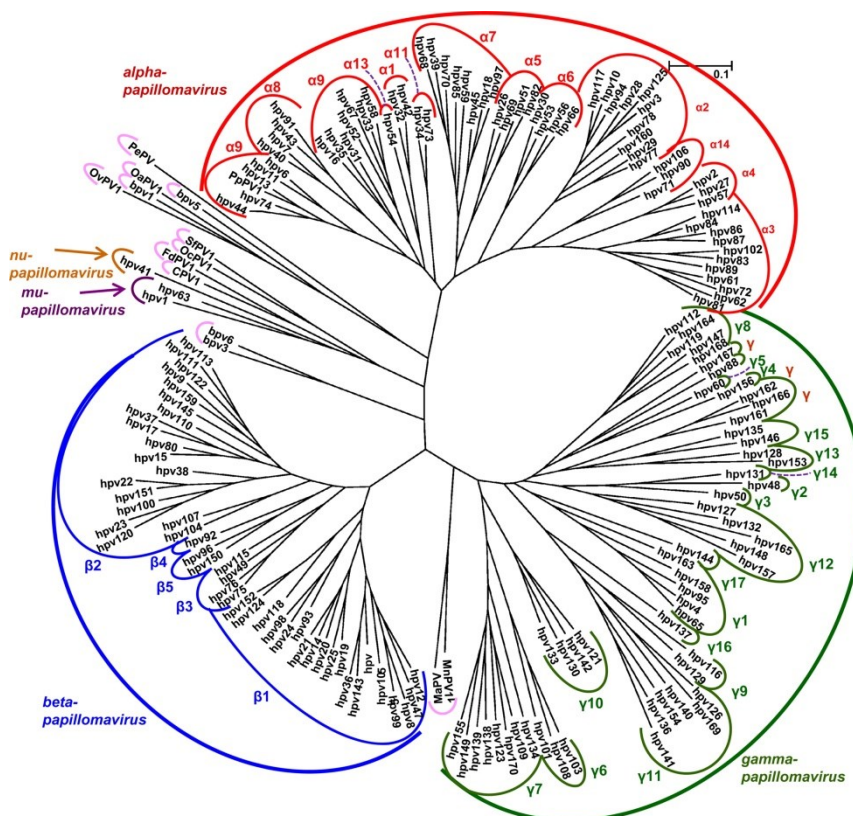
**Figura 1** – Organização genômica do HPV tipo 16 com as suas 3 regiões funcionais.  
Adaptado de D'Abramo e Archambault (2011)

## 1.2. Taxonomia

À medida que foram sendo descobertos cada vez mais HPV com uma constituição genômica diferente, tornou-se necessário criar um sistema de classificação para estes vírus. Esta classificação ficou a cargo do ICTV, que atribuiu as seguintes definições de acordo com o nível taxonômico: primeiro a **família** (*Papillomaviridae*), seguida do **gênero** designado por letras gregas. Para serem de gêneros diferentes, os vírus devem partilhar menos de 60% de semelhanças na sequência nucleotídica do capsídeo principal da proteína L1. Dentro deste, segue-se uma classificação numérica de acordo com a ordem de descoberta dos mesmos denominada **espécie** e depois a **estirpe**, que é mais conhecida na comunidade científica como **tipo** (apesar do ICTV não reconhecer esta designação). Os vírus do HPV são considerados de tipos diferentes quando a sequência nucleotídica do gene L1 é diferente de todos os outros e varia, pelo menos, 10%. Por último, o **subtipo**, e estes variam nos casos em que os vírus não têm semelhanças de 2 a 10%. Esta classificação está, portanto, condicionada pelas sequências nucleotídicas de regiões específicas do genoma do vírus e é obtida através de comparações filogenéticas entre os diferentes isolados de HPV. (Bernard et al., 2010; de Villiers, Fauquet, Broker, Bernard, & zur Hausen, 2004)



Os HPV já descritos agrupam-se filogeneticamente em 5 géneros e os restantes géneros incorporam os papilomavírus isolados em pássaros e mamíferos. Estes 5 grandes géneros são *Alfapapilomavírus*, *Betapapilomavírus*, *Gamapapilomavírus*, *Mupapilomavírus* e *Nupapilomavírus*. (de Villiers et al., 2004) (Figura 2)



**Figura 2** – 5 géneros que agrupam os tipos de HPV. Adaptado de Ethel de Villiers (2013)

### *Alfapapilomavírus*

Este género tem tropismo mucoso, pelo que causa maioritariamente lesões mucosas e algumas lesões cutâneas. Podemos encontrar aqui os HPV 16 e 18, de alto risco para o cancro do colo do útero, bem como outros tipos de baixo risco (6 e 11). Dentro deste género encontram-se ainda alguns tipos não mucosos. É de referir o HPV-7, associado a verrugas cutâneas, e outros tipos que provocam verrugas vulgares na pele, tais como 2, 27 e 57 e HPV-3 e 10. Os *alfapapilomavírus* são encontrados essencialmente em lesões genitais. (Leto, Júnior, Porro, & Tomimori, 2011)

### *Betapapilomavírus*

Neste género podemos encontrar tropismo cutâneo. Dele fazem parte os HPV 5 e 8, que se encontram mais frequentemente na pele de doentes com epidermodisplasia *verruciformis* (EV). É importante referir também alguns tipos de HPV cutâneos encontrados na pele de diversos indivíduos que não apresentam qualquer lesão, destacando assim a existência de uma alta ocorrência de infeções assintomáticas. (Leto et al., 2011)

### *Gamapapilomavírus*

O género *gamapapilomavírus* tem tropismo cutâneo e estão abrangidos sete tipos diferentes de HPV: 4, 48, 50, 60, 65, 88 e 95. Provocam sobretudo lesões cutâneas benignas. (Leto et al., 2011)

### *Mupapilomavírus*

Neste género podemos encontrar os HPV tipo 1 e 63. O HPV-1 é o tipo mais estudado e pode ser encontrado em verrugas vulgares e palmares. (Leto et al., 2011)

### *Nupapilomavírus*

Este género compreende apenas o HPV-41, que tem tropismo cutâneo e provoca lesões benignas. (Leto et al., 2011)

Os *nupapilomavírus*, contudo, já foram encontrados em cancros de pele, enquanto que os *gamapapilomavírus* raramente são associados a estes cancros. Os *mupapilomavírus* nunca foram encontrados em cancros de pele. Os *mupapilomavírus* e os *nupapilomavírus* representam uma minoria dos tipos de HPV. (Doorbar et al., 2015)

O tropismo num grupo de vírus é considerado um importante marcador biológico para compreender a evolução dos mesmos em nichos ecológicos e como conseguem induzir alterações patogénicas no seu hospedeiro. (Bottalico et al., 2011) É também preciso ter presente que apesar da filogenia fornecer informação sobre a associação das várias doenças provocadas pelo HPV, existem tipos deste vírus considerados parecidos mas que se expressam em patologias diferentes. (Doorbar et al., 2015)

### 1.3. Replicação Viral

O HPV é um vírus com uma replicação bastante complexa. O ciclo de vida do papilomavírus está dependente da diferenciação celular da célula hospedeira, o queratinócito, no epitélio. (Longworth & Laimins, 2004) Segundo Doorbar (2005), este ciclo passa por 5 etapas: 1) infecção, 2) manutenção do genoma, 3) fase proliferativa, 4) amplificação do genoma e 5) síntese e liberação de novas partículas virais.

#### 1) Infecção

A infecção começa com prováveis microferidas do epitélio que expõem as células da camada basal para a entrada de vírus, permitindo-lhes penetrar no organismo. A proliferação celular do HPV está limitada a estas células basais. (Longworth & Laimins, 2004)

Sabe-se que o sulfato de heparina é responsável pela ligação inicial das partículas virais à célula. Dois recetores celulares envolvidos são o sindecan-1 e a integrina  $\alpha 6 \beta 4$ , que estão presentes na camada basal do epitélio e são encontrados em maior quantidade aquando da ocorrência de microferidas. É provável que existam outros que ainda não são conhecidos. O vírus entra assim na célula hospedeira por endocitose. (Letian & Tianyu, 2010)

#### 2) Manutenção do genoma

Nesta fase, o DNA viral é mantido na forma de episomas, que são elementos extracromossómicos que conseguem replicar-se independentemente do DNA da célula hospedeira. O vírus utiliza os constituintes celulares envolvidos na replicação do seu hospedeiro para fazer um número baixo de cópias do próprio DNA (entre 50 a 100). As proteínas virais E1, E2, E6 e E7 também se expressam a um baixo nível. (Doorbar, 2005)

#### 3) Fase proliferativa

Na fase proliferativa, as proteínas virais E6 e E7 trabalham em conjunto para estimular o ciclo celular do hospedeiro e impedir a sua normal diferenciação terminal. A proteína E7, em associação com a proteína celular pRb, formam um complexo que estimula a progressão da fase S da mitose (fase de duplicação do DNA). Por sua vez, a proteína E6 complementa este papel prevenindo a indução de apoptose por parte do

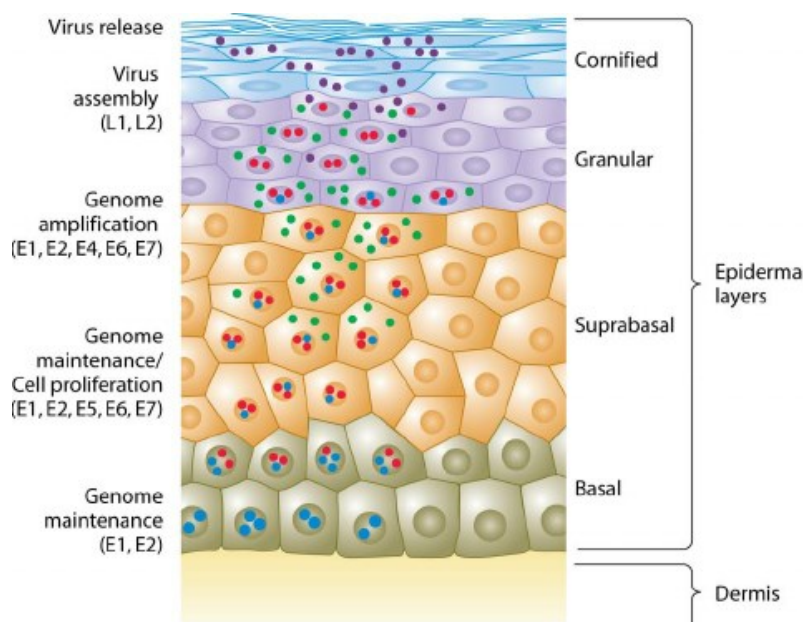
hospedeiro, que seria a sua resposta natural a este distúrbio do ciclo celular. Para isso liga-se à proteína p53 (supressora de tumor) e inativa-a, induzindo a sua degradação. Estas duas proteínas são assim consideradas oncogénicas, já que induzem anomalias cromossómicas e afetam o crescimento celular. (Doorbar, 2005)

#### **4) Amplificação do genoma**

Ocorre replicação do genoma viral em conjunto com o DNA da célula hospedeira e, após a divisão celular, verifica-se a migração de células que começam a sofrer diferenciação a partir da camada basal. Sucede então a integração do genoma viral no DNA do hospedeiro. O gene E1 vai auxiliar na replicação do genoma viral ao codificar uma helicase específica do DNA, e trabalha em conjunto com o gene E2, responsável pela regulação da transcrição e pelo bloqueio do normal funcionamento celular do hospedeiro em função da replicação do vírus. Consegue-se assim uma amplificação do genoma em mais de 1000 cópias. (Doorbar, 2005)

#### **5) Síntese e libertação de novas partículas virais**

Nesta última fase do ciclo viral, as proteínas do capsídeo L1 e L2 vão fazer parte da constituição das novas partículas virais (formando os capsídeos das mesmas) e segue-se a libertação do vírus para o sistema nas camadas superiores do epitélio. (Doorbar, 2005)



**Figura 3** – O ciclo de vida do HPV. Adaptado de Lazarczyk et al. (2009)

#### **1.4. Fatores de risco para infecção e carcinogénese**

O fator de risco mais pertinente para a obtenção de uma infecção por HPV é o número de parceiros sexuais. O tabaco e o início precoce de atividade sexual também são considerados fatores de risco. (Braaten & Laufer, 2008)

Por sua vez, os fatores de risco principais para a carcinogénese são o álcool e tabaco. Há, no entanto, uma percentagem de doentes que não fumam nem consomem bebidas alcoólicas. Nestes casos, o próprio HPV é considerado como agente carcinogénico. Estas situações são mais frequentes em doentes mais jovens e que apresentam comportamentos sexuais de risco (como o início precoce da atividade sexual, práticas comuns de sexo oral e um elevado número de parceiros sexuais). (Tota, Chevarie-Davis, Richardson, deVries, & Franco, 2011)

#### **1.5. Transmissão**

O HPV tem diversas vias de transmissão. A mais comum é o contacto sexual, mas também pode ocorrer através do sangue, por via perinatal, líquido amniótico ou infecção transplacentária, por autoinoculação ou pode haver ainda, segundo alguns autores sugerem, uma transmissão através da saliva. (Medina, Medina, & Merino, 2010)

As práticas sexuais que possibilitam a transmissão viral são relações peno-vaginais e peno-anais, sexo oral e sexo digital-vaginal. É importante salientar o sexo oral como o principal meio de transmissão da infecção para a cavidade oral e orofaringe. (Tota et al., 2011)

A maior parte das infeções são adquiridas nos primeiros 2 anos de atividade sexual. Como diversos estudos epidemiológicos demonstraram, o risco de infecção é diretamente proporcional ao número de parceiros sexuais. Os preservativos podem reduzir o risco de transmissão do vírus, no entanto esta proteção não é 100% eficaz. (Braaten & Laufer, 2008)

Sabe-se também que o HPV pode ser transmitido da mãe para o bebé durante o parto, da mucosa do colo do útero de mães infetadas para a mucosa orofaríngea dos seus filhos. Esta transmissão tem maior probabilidade de ocorrer em partos vaginais do que em cesarianas.

Há alguma evidência que a transmissibilidade varie consoante o genótipo do vírus, dado que os tipos de HPV de alto risco estão mais associados com o contacto sexual do que os de baixo risco. (Tota et al., 2011)

Existem outros fatores predisponentes para a infeção, tais como o estatuto socioeconómico, uso ou não de preservativo, circuncisão, a toma de contraceptivos orais, o tabaco, nutrição, imunossupressão (os doentes com HIV apresentam uma enorme probabilidade de desenvolver uma infeção e a sua progressão será mais rápida que nos restantes indivíduos) e carga viral. Alguns polimorfismos genéticos no sistema antígeno humano e a presença de uma infeção pré-existente no organismo também estão associados com um risco aumentado de contrair uma infeção. (Tota et al., 2011)

## **1.6. Epidemiologia**

A infeção genital provocada pelo papilomavírus humano é uma das Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) mais comuns a nível mundial. Segundo uma meta-análise realizada em 2010, a maior prevalência da infeção por HPV encontra-se nas regiões Africanas sub-Sarianas, com 24%, seguido da América Latina e região das Caraíbas com 16.1%, Europa de Leste com 14.2% e por fim o Sudoeste Asiático com 14%. É de salientar que existiram diferenças marcadas, não apenas entre regiões, mas também entre países e entre estudos da mesma região. A prevalência global estimada de HPV para ambos os sexos foi de 11.7%. (Bruni et al., 2010)

Relativamente aos cancros orais e da orofaringe, por se verificar um aumento anual na incidência, foi necessário conhecer melhor a sua relação com o HPV. Um estudo realizado nos Estados Unidos da América, em 2009, mostra que este tipo de cancros associados ao HPV têm uma evidência significativa, com uma percentagem de 3.3% no total de todos os cancros que foram diagnosticados em mulheres e 2% nos homens. O cancro da orofaringe em particular, demonstrou uma associação com o papilomavírus de 78.2% nos homens e 11.6% nas mulheres. (Jemal et al., 2013)

A WHO estima que 80% da população mundial venha a contrair uma infeção por HPV. (World Health Organization, 2018) A maioria das infeções são transitórias e o sistema imunitário consegue eliminá-las, no entanto há uma percentagem de infeções, entre 10 a 20%, que persistem e são estas as que têm um maior potencial oncogénico. (Medina et al., 2010)

Estudos epidemiológicos desmonstraram a existência de um agente que é sexualmente transmitido do homem para a mulher, pelo que o homem terá um papel bastante importante na transmissão do vírus. (Medina et al., 2010) Segundo Syrjänen apurou, o homem é considerado o principal reservatório dos papilomavírus. (S. M. Syrjänen, 1987) A probabilidade de contrair uma infecção no sexo masculino é diretamente proporcional à idade do indivíduo, o que se explica com o número crescente de parceiras sexuais e a experiência sexual que vai aumentando ao longo da vida. (Medina et al., 2010)

Como já foi referido anteriormente, no sexo feminino, a prevalência da infecção é mais comum em mulheres jovens sexualmente ativas, atingindo o pico em mulheres abaixo dos 25 anos, e diminui progressivamente a partir dos 25-30 anos para o resto da vida. (Schiller et al., 2018)

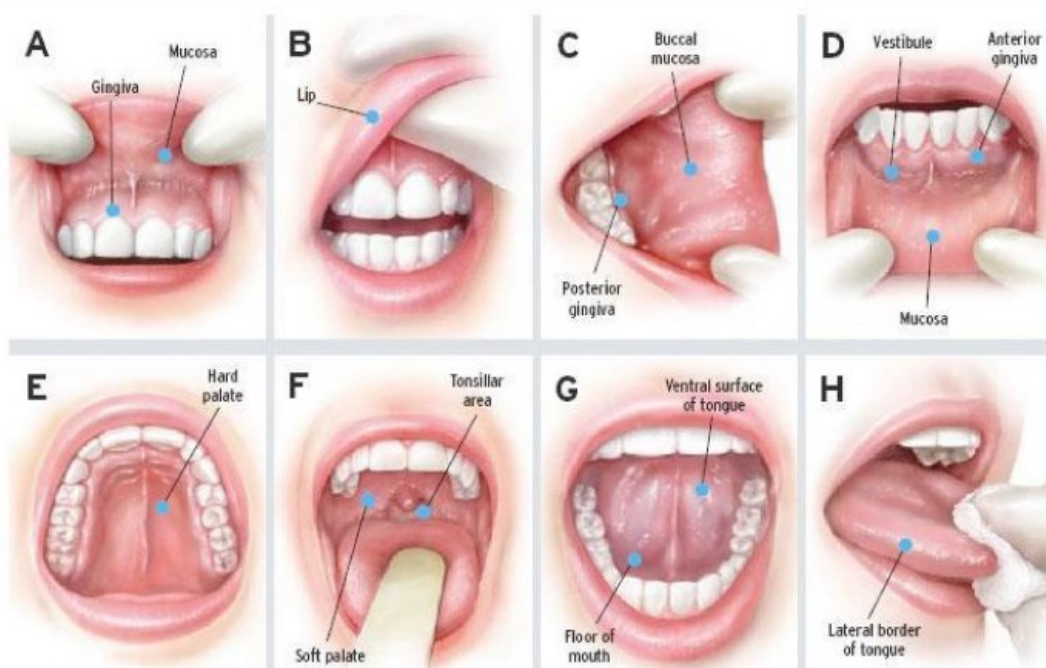
No entanto, existem outros autores que defendem um segundo pico depois da 5ª década, formando uma curva bimodal característica nos países da América Latina. O primeiro pico representa assim a infecção adquirida rapidamente após o início da atividade sexual, que normalmente dura entre 8-10 meses e que em condições normais de imunidade o organismo consegue eliminá-la (só persistindo 10% das infecções aos 35 anos). O segundo pico dá-se na fase pós-menopausa, tanto pela possível reativação de infecções latentes como pela contração de uma nova. (Medina et al., 2010)

## **2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE**

O cancro oral, em particular, tem uma tendência de ser detetado num estágio já avançado, o que é prejudicial para o doente dada a sua alta mortalidade e morbilidade. As taxas de sobrevivência a 5 anos têm-se mantido baixas, cerca de 50%, nas últimas décadas e são das piores de todos os tipos de cancro. Isto deve-se, em parte, à falta de treino dos profissionais de saúde para uma deteção e diagnóstico precoces. Mesmo com todos os avanços da Medicina no que toca ao tratamento de doenças cancerígenas, a deteção dos cancros orais nos estádios iniciais continua a ser a melhor forma de garantir a sobrevivência do doente e a sua qualidade de vida. (Messadi, 2013)

Assim sendo, há uma necessidade de investimento na formação de profissionais de saúde, em particular dos Médicos Dentistas, para que analisem toda a cavidade oral

dos seus pacientes e consigam diagnosticar lesões cancerígenas precocemente, ou ainda intervir em lesões pré-cancerígenas antes que avancem para a malignidade. (Messadi, 2013) (Figura 4)



**Figura 4** – Exame de despiste de cancro oral com 8 passos que deve ser realizado em cada consulta de Medicina Dentária. Imagem adaptada de Skyridgeperio (2018)

Para se avaliar uma lesão através dos métodos de deteção do HPV pelo seu DNA, é preciso uma amostra do tecido lesionado. (Chai, Lambie, Verma, & Punyadeera, 2015) O “gold standard” para o diagnóstico de lesões orais continua a ser a biópsia dos tecidos lesionados, com posterior análise histológica. É preciso ter presente, no entanto, que o HPV também pode ser encontrado em mucosas orais sem lesão e que não apresentam qualquer sintoma. A recolha do tecido e a análise histopatológica devem então ser feitas por profissionais de saúde experientes e com formação nas respetivas áreas. (Messadi, 2013)

A biópsia realiza-se sob anestesia local, é feita uma incisão da lesão com bisturi e a amostra de tecido é guardada numa solução de formol e com parafina como meio de inclusão. (Termine et al., 2012) (Figura 5)





**Figura 5** – Exemplo de biópsia numa lesão da língua.  
Adaptado de Avon & Klieb (2012)

Outro método para obtenção de amostras de tecido para análise é a citologia esfoliativa, utilizando uma escova própria para o efeito (como, por exemplo, a Cytobrush®). Tal como na biópsia, a amostra segue para posterior análise histopatológica realizada por um profissional qualificado para o efeito.

Na citologia, o local da lesão é escovado para obter uma amostra de células mucosas. É um método mais simples e menos invasivo que a biópsia. (Termine et al., 2012) (Figura 6)



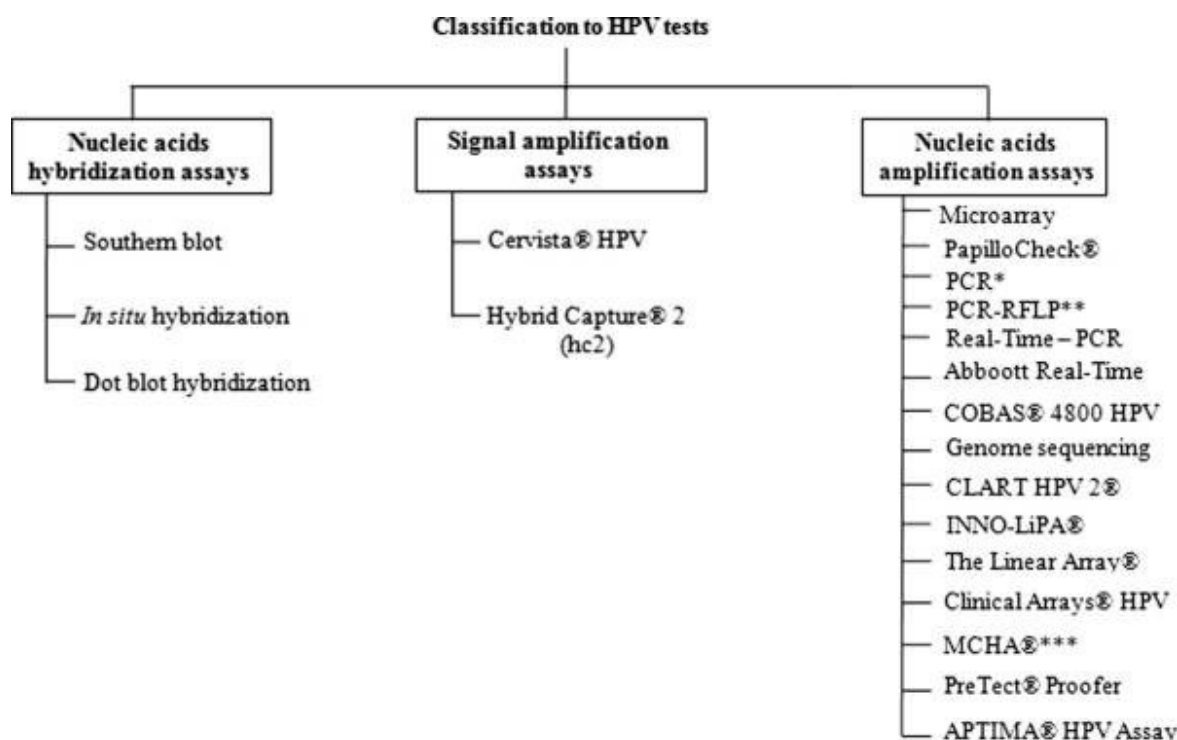
**Figura 6** – Exemplo de citologia esfoliativa com Cytobrush®.  
Adaptado de Böcking et al. (2011)

Ambos os métodos têm as suas vantagens e desvantagens. A biópsia recolhe uma porção mais significativa da mucosa oral, dado que inclui células da camada basal onde o vírus pode estar presente de forma latente. (Termine et al., 2012) A sua principal limitação prende-se com o facto de não especificar qual o tipo de vírus infetante, ou por vezes não permitir a própria deteção do vírus dado que as células parecem normais. (Medina et al., 2010) Em relação à citologia esfoliativa, beneficia por ser um método menos invasivo, logo melhor tolerado pelo doente, permite a colheita de células de uma área maior e apresenta um menor risco de contaminação do DNA viral. (Termine et al., 2012) No entanto, e em relação especificamente ao carcinoma espinocelular (um dos cancros da cavidade oral), a sua relação com o HPV apenas foi verificada nos tecidos biopsados e não nas amostras recolhidas por citologia. Conclui-se então que para a obtenção de resultados mais fidedignos, a biópsia deve continuar a ser o método mais utilizado. (S. Syrjänen et al., 2011)

### **3. MÉTODOS DE DETECÇÃO DE HPV**

Existem diversos métodos para detetar o vírus do HPV nas amostras colhidas. Dado que o papilomavírus não se propaga em culturas *in vitro*, a medicina molecular representa hoje em dia a melhor opção para uma correta identificação. Engloba três técnicas principais: hibridização de ácidos nucleicos, cujos testes mais utilizados são a hibridização *in situ* e o *southern blot*; amplificação de sinal e amplificação de ácidos nucleicos, que engloba o microarray e a reação de polimerização em cadeia (PCR). (Abreu, Souza, Gimenes, & Consolaro, 2012) (Figura 7)

Existe ainda um outro método bastante utilizado, que é a deteção do biomarcador p16 por imunohistoquímica. (Mirghani et al., 2014)



**Figura 7** – Esquema de classificação dos testes para detecção do HPV. Adaptado de Abreu et al. (2012)

Os três métodos acima representados têm os seus benefícios e fraquezas, demonstrados pela tabela 1. Deve-se ter em atenção, no entanto, que estes testes não devem ser contemplados isoladamente, dado que há importantes interações com outros fatores, como a exposição ao fumo do tabaco. (Mirghani et al., 2014)

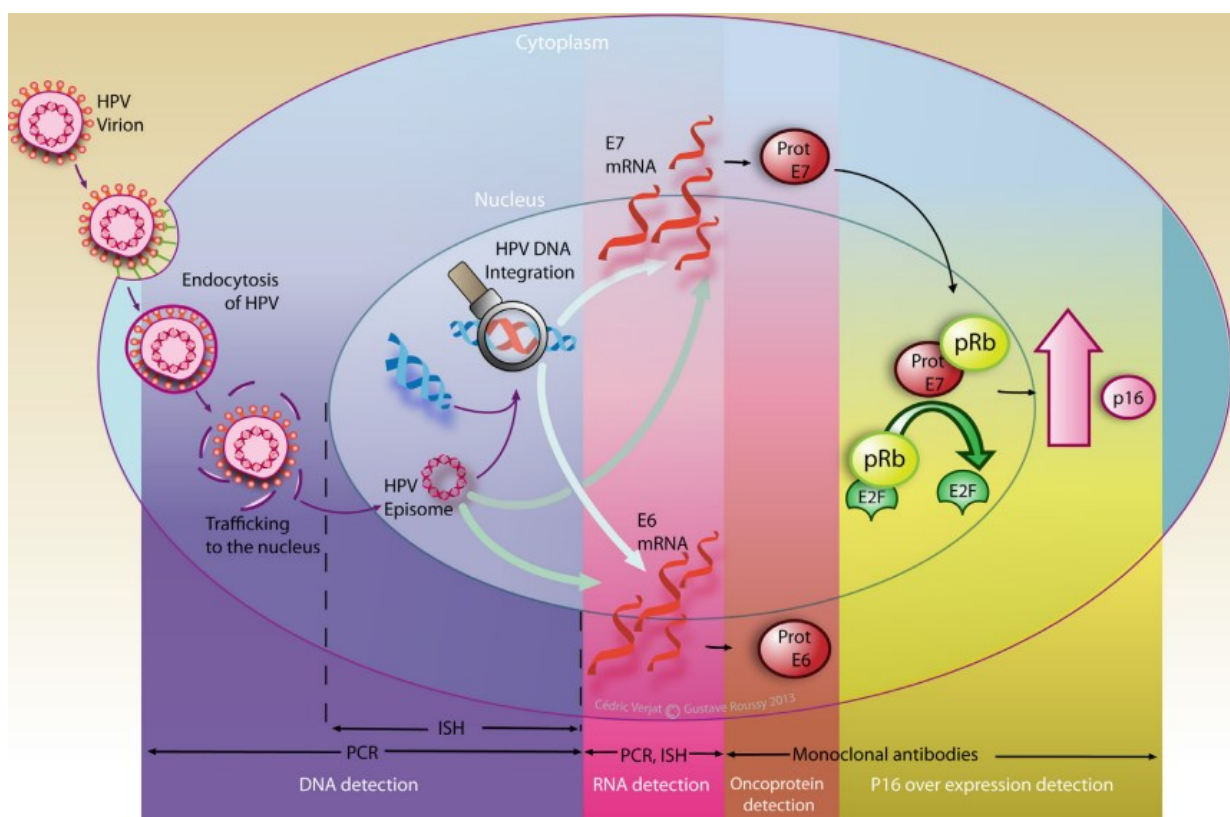
**Tabela 1** – Vantagens e desvantagens dos métodos moleculares de detecção de HPV. Adaptado de Abreu et al. (2012)

Método	Vantagens	Desvantagens
<b>Hibridização de ácidos nucleicos</b>	O <i>southern blot</i> é considerado o gold standard para a análise genómica do HPV	Baixa sensibilidade
	Verifica-se a presença de HPV em associação com a morfologia	Processo laborioso
		São necessárias grandes quantidades de DNA purificado
		O <i>southern blot</i> e a hibridização não podem utilizar DNA degradado

<b>Amplificação de sinal</b>	Quantitativo	Utiliza tecnologias licenciadas e patenteadas
	O teste Hybrid Capture® 2 (hc2) é aprovado pela Food and Drug Administration (FDA)	Não está desenhado para genotipagens individuais
	Baixa taxa de falsos-positivos	
	Alta sensibilidade para a genotipagem	
<b>Amplificação de ácidos nucleicos</b>	Tecnologia flexível (de carga viral e genótipo)	Baixa amplificação de sinal para alguns tipos de HPV
	Sensibilidade muito alta	Contaminação com material amplificado anteriormente pode conduzir a falsos-positivos
	Permite fazer análises múltiplas	

Atualmente ainda não há consenso acerca de qual o melhor método, portanto a escolha dos testes varia consoante os recursos que os laboratórios têm à disposição e a preferência pessoal dos profissionais de saúde. (Mirghani et al., 2014)

A figura 8 demonstra a correlação entre os métodos de detecção de HPV consoante o estágio de infecção do vírus.



**Figura 8** – Correlação entre os métodos de detecção de HPV consoante o estágio de infecção do vírus. Adaptado de Mirghani et al. (2014)

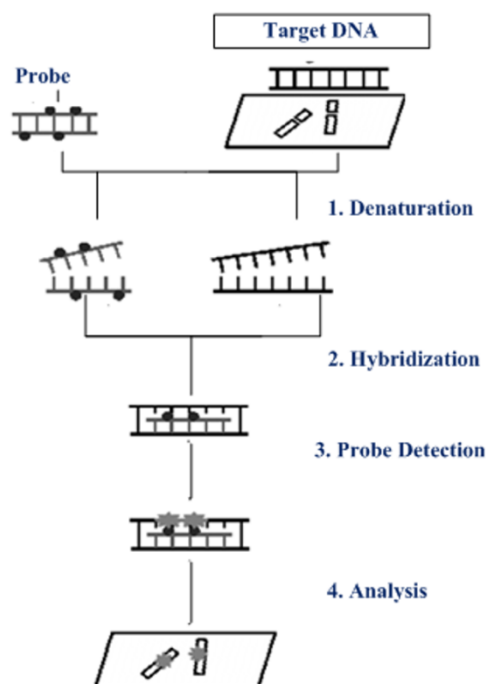
### 3.1. Hibridização *in situ*

A hibridização *in situ* é um método que utiliza sondas com marcação radioativa que se vão ligar com um tipo específico ou uma sequência de DNA viral de alto risco. Durante o teste há uma visualização direta por parte do operador do vírus dentro do tumor, o que vai permitir identificar com precisão as células infetadas.

As sondas mais utilizadas conseguem identificar os HPV de alto risco mais frequentes: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. (Mirghani et al., 2014)

Este método possui menos especificidade que o *southern blot*, quer em amostras fixas como conservadas em parafina. No entanto, em comparação com o método de PCR, tem maior sensibilidade em identificar e localizar o vírus de forma fiável nas lesões. (Chai et al., 2015)

A baixa sensibilidade torna-se a sua maior fraqueza e um resultado negativo não prova a 100% a ausência de HPV nessa célula. (Mirghani et al., 2014) (Figura 9)



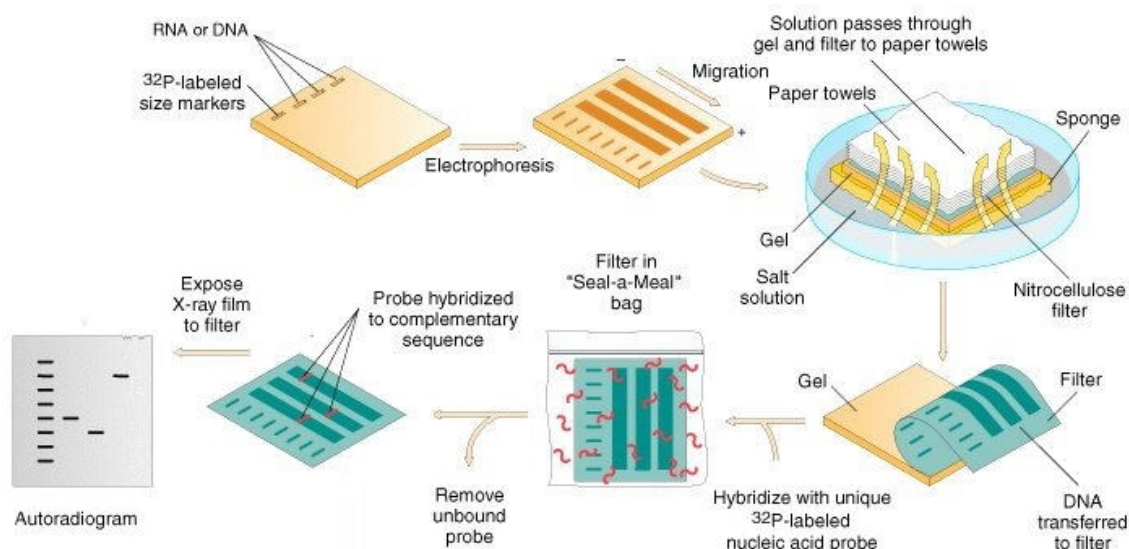
**Figura 9** – Esquema representativo do método de hibridização *in situ*. Adaptado de Ratan et al. (2017)

### 3.2. Southern blot

Outra técnica de hibridização de ácidos nucleicos é o *southern blot*, considerado o gold standard para a análise genômica de HPV. (Abreu et al., 2012)

Utiliza também sondas radioativas específicas para os tipos de HPV, que vão hibridizar o DNA celular para permitir identificar os tipos de HPV na lesão que correspondem à sonda utilizada. (Mirghani et al., 2014) Este método permite estimar a quantidade de DNA presente na amostra, e deteta entre 1 a 10 cópias de material genético por célula. (Castro & Bussoloti Filho, 2006)

O teste é caracterizado pela baixa percentagem de falsos-positivos que apresenta e pela moderada especificidade e sensibilidade. Apresenta, no entanto, limitações relativamente à grande diversidade de tipos de HPV, dado que não é capaz de detetar DNA em sequências virais desconhecidas. (Leto et al., 2011) Outra desvantagem é a morosidade do processo, bem como a necessidade de grandes quantidades de DNA purificado, nem sempre disponíveis nas amostras recolhidas. (Abreu et al., 2012) (Figura 10)



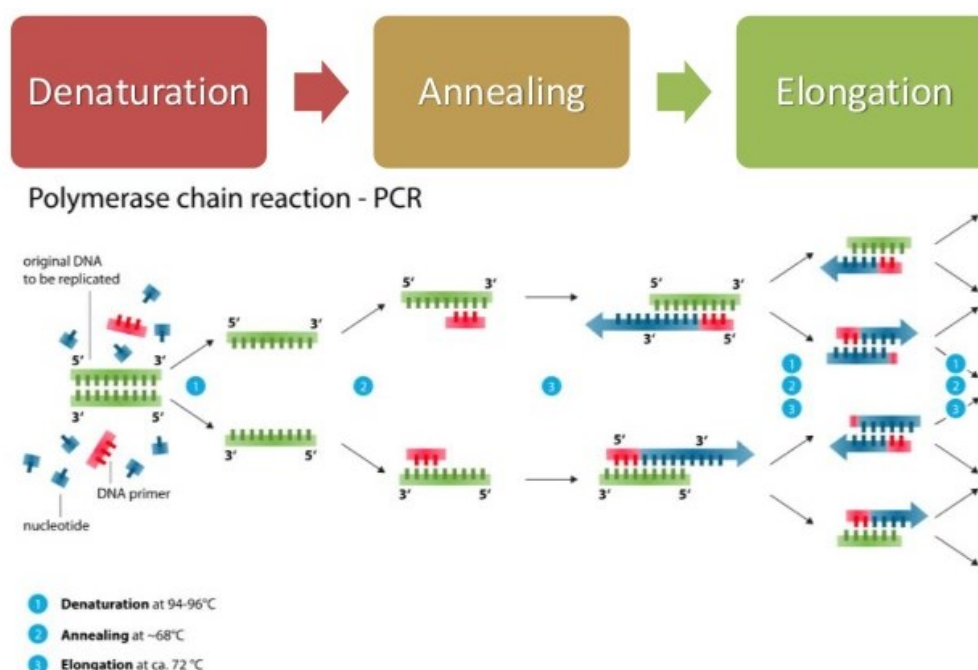
**Figura 10** – Esquema representativo do método de *southern blot*. Adaptado de Griffiths et al. (2000)

### 3.3. Reação de Polimerização em Cadeia (PCR)

As técnicas baseadas em PCR são altamente sensíveis e específicas, e são dos testes mais utilizados em laboratório. Num teste de PCR convencional, uma DNA polimerase termoestável reconhece a área de interesse na amostra e liberta iniciadores oligonucleotídicos que vão rodear essa área. No final, pode-se obter até mil milhões de cópias de DNA a partir de uma única molécula, com 30 ciclos de amplificação.

Os iniciadores utilizados visam, principalmente, o gene L1 do capsídeo e permitem a amplificação de um grande número de genótipos de HPV numa reação. Após a reação de amplificação, os genótipos de HPV podem ser identificados separadamente por outras técnicas, como a eletroforese em gel ou microarray.

Existem, contudo, algumas fragilidades na técnica. Podem ocorrer falsos-negativos quando a infeção é provocada por múltiplos tipos de HPV e existem poucas cópias do DNA viral na amostra. Em casos de infeção múltipla, também pode acontecer um dos tipos ser muito mais amplificado que os restantes, o que dificulta a deteção de todos os genótipos presentes. (Abreu et al., 2012) (Figura 11)



**Figura 11** – Esquema representativo de uma reação de polimerização em cadeia. Imagem adaptada de Online Biology Notes (2017)

### 3.4. Microarray

Neste método, o produto obtido por PCR é hibridizado para um chip, que passa por um processo de lavagem e no fim consegue-se visualizar os sinais hibridizados com um scanner de chips de DNA. As técnicas de microarray permitem uma análise em paralelo de várias amostras de DNA, e as suas duas aplicações com maior destaque são identificar o perfil de expressão génica e a análise de mutações.

Vários estudos demonstraram que a reação de polimerização em cadeia em conjunto com a análise por microarray formam uma dupla bem sucedida na deteção e identificação dos tipos de HPV presentes nas amostras de lesões. O chip de DNA de HPV mostrou uma sensibilidade e especificidade mais altas que a eletroforese em gel e em alguns casos produziu melhores resultados que a sequenciação direta de DNA. (Abreu et al., 2012)

### 3.5. Imunohistoquímica do p16

A proteína p16 é um biomarcador naturalmente existente no organismo. Está localizada no cromossoma 9p21, é um inibidor da ciclina quinase dependente (CDK), codificado pelo gene CDKN2A, e participa na regulação do ciclo celular prevenindo a progressão da célula da fase G1 para a fase S. A expressão da p16 desempenha um



papel importante na ocorrência, progressão e prognóstico de vários câncros. (Tang et al., 2017)

A proteína p16 regula negativamente a proliferação da célula suprimindo a proteína pRb. A perda da p16 por deleção homozigótica do gene ou por mutação acontece numa variedade de tumores, incluindo em 54 a 82% dos carcinomas das células escamosas de cabeça e pescoço. (Mirghani et al., 2014)

Vários estudos encontraram uma forte relação entre o papilomavírus e a proteína p16. A sua sobre expressão, consequência da transcrição do oncogene E7 do HPV, é classificada como biomarcador do carcinoma das células escamosas de cabeça e pescoço induzido por HPV. (Woods et al., 2014)

Na técnica de imunohistoquímica da p16, é feita a detecção do inibidor 2A da ciclina quinase dependente. É um método com alta sensibilidade (94-100%), mas baixa especificidade para o papilomavírus (78-82%), tendo sido mais utilizado para ensaios clínicos. (Mirghani et al., 2014)

#### **4. MANIFESTAÇÕES DA INFECÇÃO POR HPV**

Como já foi abordado, o HPV apresenta uma grande variedade de genótipos e está, portanto, associado a diversas patologias que manifestam a infecção. Os papilomavírus de baixo risco estão associados a diversas lesões epiteliais benignas, tais como verrugas cutâneas, epidermodisplasia *verruciformis*, condiloma *acuminatum*, papilomatose respiratória frequente e hiperplasia epitelial focal (Doença de Heck). (Doorbar et al., 2015; Messadi, 2013)

Em relação aos papilomavírus de alto risco, a sua infecção persistente conduz ao aparecimento de lesões malignas associadas a vários tipos de cancro. É de destacar o cancro do colo do útero, cancro do ânus, neoplasias da vulva, da vagina e do pênis, da laringe e orofaringe, bem como aproximadamente metade dos câncros da cabeça e pescoço. (Castellsagué, 2008; Markowitz et al., 2014; Schiller et al., 2018)

## 4.1. PATOLOGIAS BENIGNAS

### 4.1.1. Verrugas cutâneas

As verrugas cutâneas englobam as **verrugas comuns, verrugas plantares e verrugas planas e intermédias**. São causadas por tipos de HPV que infetam a pele e mucosas e são as manifestações clínicas mais comuns da infecção por papilomavírus. (Leto et al., 2011) Na maioria das vezes são assintomáticas, podendo em alguns casos causar dor, prurido ou mesmo sangramento, dependendo da localização. A sua tendência natural é desaparecerem num período de 1 a 2 anos, ocasionalmente persistindo mais tempo quando há uma concentração do vírus na pele em redor das verrugas originais. A transmissão ocorre por contacto direto com um indivíduo que apresente a lesão, e a sua incidência é maior em idade escolar. (Bennett, Dolin, & Blaser, 2015) Histologicamente, pode-se verificar nas verrugas papilomatose, hiperqueratose proeminente com paraqueratose, hipergranulose e acantose. (Leto et al., 2011)

#### 4.1.1.1. Verrugas comuns

As verrugas comuns, ou *verrucae vulgaris*, estão associadas com os HPV tipo 1, 2, 4, 7, 26-29 e 57. Apresentam-se como pápulas ásperas da cor da pele, irregulares e hiperqueratóticas e podem ser encontradas nos pés, mãos, dedos, órgãos genitais e lábios. (Vlahovic & Khan, 2016) Nas crianças é muito frequente o seu aparecimento nos joelhos. As lesões tanto podem aparecer isoladamente como em conjunto, normalmente são assintomáticas e apresentam tamanhos variados. A sua evolução não é previsível, dado que cerca de 65% desaparece espontaneamente ao fim de 2 anos. (Leto et al., 2011) Pessoas que contactem diariamente com peixe, aves e carne apresentam uma maior propensão para desenvolverem este tipo de verrugas, dado que a maceração da pele e a exposição frequente à água propiciam a entrada do papilomavírus. O HPV tipo 7 em particular está bastante envolvido nas infeções destes indivíduos, e forma verrugas hiperproliferativas e filiformes. (Bennett et al., 2015; Douglas, 2016) (Figura 12)



**Figura 12** – Verruga comum. Adaptado de Leto et al. (2011)

#### 4.1.1.2. Verrugas plantares

As verrugas plantares (*verrucae plantaris*), também conhecidas como *myrmecia*, são lesões bastante dolorosas. Causadas pelo HPV-1, apresentam-se como verrugas endofíticas ásperas, espessas e que normalmente aparecem individualmente, mas também podem ocorrer de forma múltipla. São comuns em crianças dos 5 aos 15 anos e aparecem nas palmas das mãos, plantas dos pés, dedos das mãos e dos pés, debaixo das unhas e, raramente, na cara, escalpe ou corpo. (Vlahovic & Khan, 2016) O seu tamanho normalmente está entre 2 mm e 1 cm e podem causar bastante dor a andar porque se inserem profundamente na pele. (Bennett et al., 2015; Douglas, 2016) (Figura 13)



**Figura 13** – *Myrmecia*. Adaptado de Vlahovic & Khan (2016)

#### 4.1.1.3. Verrugas planas e intermédias

As verrugas planas, ou *verrucae planae*, estão associadas aos HPV tipo 3, 10, 27-29 e 41. São pápulas achatadas, salientes, com superfície lisa e contorno irregular. Vão de cor-de-rosa a uma cor mais acastanhada e ocorrem de forma múltipla, desde 2 até várias centenas, tanto de forma disseminada como confluyente e agrupada. Aparecem na face e dorso das mãos. É frequente a sua incidência em crianças, mulheres jovens e doentes imunocomprometidos e normalmente desaparecem espontaneamente. (Vlahovic & Khan, 2016) Quando a sua saliência ultrapassa a normalidade, passam a designar-se por verrugas intermédias. (Bennett et al., 2015) (Figura 14)



**Figura 14** – Verruga plana. Adaptado de Leto et al. (2011)

#### 4.1.2. Epidermodisplasia *verruciformis*

A epidermodisplasia *verruciformis* (EV) é uma doença genética rara autossómica recessiva e caracteriza-se por uma extrema susceptibilidade dos seus portadores a certos tipos de papilomavírus. Os indivíduos apresentam deficiências genéticas na imunidade cutânea, ficando assim vulneráveis a infeções persistentes por HPV e, como consequência a longo prazo, cancro de pele. As mutações ocorrem nos genes EVER1 e EVER2. Clinicamente, as lesões são polimórficas, apresentando-se como máculas semelhantes à pitíriase versicolor ou como pápulas semelhantes às verrugas planas, que podem malignizar. São mais frequentes na face e nas extremidades. As lesões aparecem, normalmente, em idades mais jovens e a sua

tendência é de aumentar com o passar dos anos. Em indivíduos que tenham esta doença, durante a quarta e quinta décadas de vida, cerca de metade irá desenvolver cancro de pele (nomeadamente carcinoma de Bowen e carcinoma das células escamosas), principalmente nas áreas frequentemente expostas ao sol. Isto acontece pois suspeita-se que haja uma ligação entre a infeção por um HPV oncogénico presente na EV e os efeitos cancerígenos da radiação ultra violeta.

A EV está associada com os HPV tipo 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 25, 36, 38, 47 e 50. Os tipos 5, 8 e 14 são os mais preocupantes, pois são aqueles que mais frequentemente se associam com a malignidade nesta doença. (Patel, Morrison, Rady, & Tyring, 2010)

#### **4.1.3. Condiloma *acuminatum***

O condiloma *acuminatum* é uma doença sexualmente transmissível causada pelo HPV. É uma das manifestações mais comuns do papilomavírus na área genital, sendo também frequentemente encontrada na mucosa oral, devido à prática de sexo oral. (Percinoto, Danelon, Crivelini, Cunha, & Percinoto, 2014)

As lesões apresentam-se como pápulas, nódulos ou crescimentos pedunculados sésseis, filiformes e cor-de-rosa, isoladas ou em aglomerados. Podem apresentar um tamanho variável e normalmente são assintomáticas, causando em alguns casos dor, prurido e sangramento. Esta doença está mais frequentemente associada com HPVs de baixo risco, tais como 6 e 11, mas também podem ser encontrados outros genótipos, entre eles o HPV-16 e 18. As suas localizações mais comuns no sexo feminino são o colo do útero e genitais externos e no sexo masculino a região peniana e perianal. A incidência destes condilomas é maior entre os 16 e os 25 anos, mas podem ocorrer noutras faixas etárias. (Doorbar et al., 2015; Douglas, 2016)

#### **4.1.4. Hiperplasia epitelial focal**

A hiperplasia epitelial focal, também conhecida como Doença de Heck, é uma doença rara associada ao papilomavírus que afeta a mucosa oral. É benigna, mais frequente em crianças e mulheres e está associada principalmente ao HPV-13 e 32. A Doença de Heck tem uma preferência racial por esquimós, indígenas americanos e algumas comunidades africanas. As suas lesões são pápulas pequenas, cor-de-rosa e

aparecem isoladas ou em placas. Normalmente são assintomáticas e têm tendência a regredir espontaneamente. Afetam mais o lábio inferior, mas também podem ser encontradas no lábio superior, mucosa jugal, língua, palato, assoalho da boca e orofaringe. (Doorbar et al., 2015; Leto et al., 2011) (Figura 15)



**Figura 15** – Hiperplasia epitelial focal. Adaptado de Guil, Estévez, & Ceballos (2015)

#### **4.1.5. Papilomatose respiratória recorrente**

A papilomatose respiratória recorrente é uma doença rara do trato respiratório superior, normalmente benigna mas que apresenta um pequeno potencial para a malignidade (aproximadamente 2%). As lesões consistem em tumores múltiplos que surgem primariamente na laringe, podendo atingir a traqueia e os pulmões. Os sintomas mais comuns são rouquidão e estridor e em casos mais graves pode mesmo ocorrer obstrução das vias aéreas.

Os tipos de HPV mais associados são o 6 e 11, sendo possível encontrar o tipo 16 numa percentagem mais pequena. Esta doença tanto se pode manifestar na infância, em idades dos 1 aos 4 anos, como em adultos entre os 20 e 40 anos, afetando ambos os sexos. O maior fator de risco para as crianças são as mães com historial de verrugas genitais durante a gravidez, enquanto que para os adultos são o número de parceiros sexuais e a prática de sexo oral. (M. L. Gillison et al., 2012)

## **4.2. PATOLOGIAS PRÉ MALIGNAS E MALIGNAS**

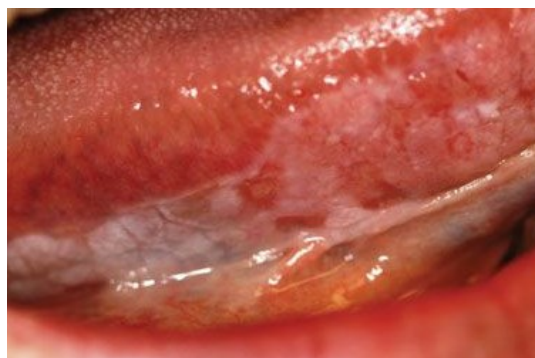
O HPV foi o primeiro vírus declaradamente oncogénico identificado. (McBride, 2017) Está provado que causa cancros cervicais, anais, vulvares, penianos e da orofaringe, tendo também uma forte correlação com o cancro oral, apesar dos trâmites dessa ligação ainda não serem claros. (Bansal, Singh, & Rai, 2016)

### **4.2.1. Leucoplasia**

As primeiras modificações morfológicas a serem detetadas no cancro oral são as lesões pré malignas, das quais é exemplo a leucoplasia. Clinicamente são lesões brancas na mucosa, não destacáveis, que se não forem tratadas podem evoluir para lesões cancerígenas. O tratamento de eleição é a biópsia excisional, mas as taxas de recidiva podem alcançar os 50%. Isto pode acontecer por exposição contínua aos fatores de risco, tais como o tabaco e próteses mal adaptadas, mas muitas vezes a causa para esta recidiva não é conhecida. (Messadi, 2013) Frequentemente ocorre também a regressão da lesão após a remoção do fator etiológico. Os tipos de HPV associados à leucoplasia são 6, 16, 18 e 33, sendo possível encontrar tanto papilomavírus de baixo risco oncogénico como de alto. (Feller, Khammissa, Wood, & Lemmer, 2009)

### **4.2.2. Eritroplasia**

Outro exemplo de lesões pré malignas é a que apresenta maior risco de progressão maligna é a eritroplasia. É uma lesão rara, caracterizada por placas vermelho vivo e aveludadas, que sangram facilmente ao serem raspadas. Pode ocorrer em qualquer parte da cavidade oral, mas aparece mais frequentemente no assoalho da boca, palato mole, face ventral da língua e nas fauces. Normalmente são assintomáticas, podendo dar uma sensação de ardor. Os fatores de risco associados à eritroplasia são o álcool e o tabaco, e o seu tratamento passa por uma biópsia, tanto tradicional como a laser. Não são conhecidas com exatidão as taxas de recidiva para esta lesão. (Messadi, 2013) Os tipos de HPV a ela associados são o 6, 11, 18, 31 e 33 (Feller et al., 2009) (Figura 16)



**Figura 16** – Eritroplasia no bordo lateral da língua. Adaptado de Messadi (2013)

#### **4.2.3. Fibrose submucosa oral**

A fibrose submucosa oral é uma doença crónica, caracterizada por inflamação e fibrose progressiva dos tecidos submucosos e que resulta numa rigidez acentuada, com eventual incapacidade para abrir a boca. Isto ocorre com mais frequência na mucosa bucal, mas qualquer parte da cavidade oral pode ser envolvida, inclusive a faringe. A sua patogénese não está bem definida, mas acredita-se que seja multifatorial. Esta cascata de acontecimentos começa com uma inflamação na mucosa oral, que vai intercalando com alguma cicatrização e fibrose e que termina em trismos. (Messadi, 2013)

#### **4.2.4. Líquen plano oral**

O líquen plano oral é uma doença crónica inflamatória da mucosa oral de etiologia desconhecida. Clinicamente caracteriza-se pela presença de estrias, pápulas ou placas brancas, mas também pode ocorrer eritema, erosão ou bolhas, que geralmente são bastante dolorosas. Esta doença afeta 1 a 2% da população adulta mundial e aparece normalmente na mucosa bucal, língua e gengiva. (Messadi, 2013) Há vários estudos que sugerem que o líquen plano oral pode estar associado a alguns papilomavírus de alto risco, nomeadamente o HPV-16 e 18, constituindo assim uma lesão com potencial maligno que pode despoletar carcinoma das células escamosas. (Feller et al., 2009)



#### **4.2.5. Cancro anal**

O cancro anal é uma das neoplasias malignas que o papilomavírus humano provoca. Sabe-se que o vírus está associado a cerca de 93% dos cancros do ânus e que os genótipos mais frequentemente encontrados são o HPV-16, 18 e 33. O aumento do risco de infeção nesta região está associado com a frequência da prática de sexo anal, havendo assim uma incidência significativa nos casais homossexuais. (Brianti, De Flammineis, & Mercuri, 2017; Schiller et al., 2018)

#### **4.2.6. Cancro vulvar**

O HPV é encontrado em cerca de 51 % de todos os cancros vulvares e o tipo mais frequentemente observado é o HPV-16, tendo também sido encontrados os 18, 21, 31, 33 e 34. No entanto, é mais fácil detetar o papilomavírus no cancro do colo do útero que no vulvar, e isto pode dever-se à sensibilidade dos métodos de deteção que são utilizados bem como à presença nas lesões de genótipos ainda não identificados. É um tipo de cancro que ocorre em mulheres mais jovens. (Brianti et al., 2017; Leto et al., 2011)

#### **4.2.7. Cancro peniano**

36% dos cancros do pênis são causados por papilomavírus humano. Nesta neoplasia o genótipo mais encontrado é o HPV-16 e as lesões caracterizam-se por serem nodulares, erosivas, ulceradas ou ainda verrucosas. Tal como o cancro vulvar, tem maior prevalência em idades mais jovens. (Brianti et al., 2017; Leto et al., 2011)

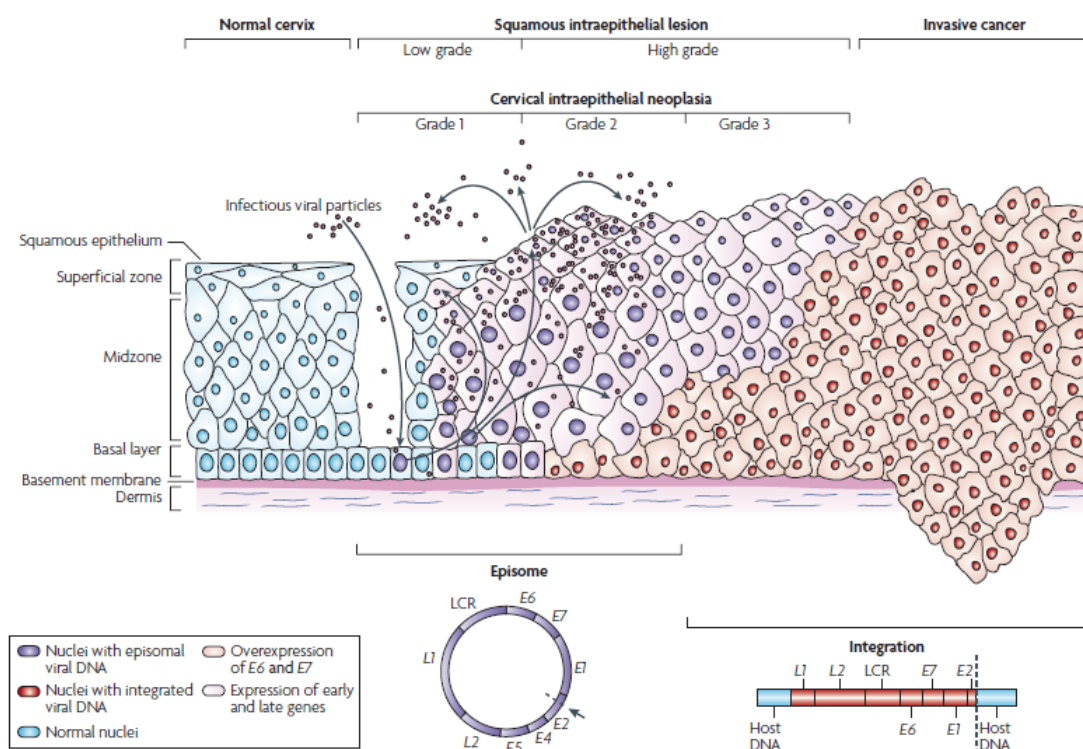
#### **4.2.8. Cancro cervical**

O cancro do colo do útero, ou neoplasia intraepitelial cervical (CIN) está em 96% dos casos associado ao HPV, sendo esta a neoplasia mais relevante no que toca ao papilomavírus e aquela que impulsionou a descoberta das vacinas profiláticas. Os dois tipos de HPV oncogénicos mais importantes na CIN são o 16 e 18. (Woodman, Collins,

& Young, 2007) É também frequente encontrarem-se os HPV-31, 33, 45, 52 e 58. (Douglas R Lowy, 2016)

Esta neoplasia é classificada em diferentes graus (1, 2 e 3) segundo a sua gravidade e progressão no tempo. Normalmente, as lesões começam por ser carcinomas *in situ*, evoluindo depois para a malignidade. O HPV vai penetrar a derme até à camada basal através das microferidas no epitélio cervical e, a partir daí, há expressão dos genes precoces e dá-se a replicação do DNA viral. Com a evolução da infeção, o genoma viral vai-se integrar no DNA do hospedeiro. O grau 1 da CIN inclui as lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), que com a continuação da infeção progridem para lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) e CIN grau 2 e 3 até que a neoplasia se torna totalmente invasiva, o que pode demorar de uma a três décadas.

O ponto chave deste cancro são as infeções persistentes: mesmo que o hospedeiro contraia infeções dos HPV-16 e 18, considerados os mais oncogénicos, o organismo em condições de imunidade normais consegue eliminá-las. No entanto, o mesmo vírus pode provocar várias infeções em alturas diferentes e, inclusive, entrar em estado de latência por algum tempo. Nestas circunstâncias o organismo já não consegue eliminar o vírus e este torna-se então cancerígeno. (McBride, 2017; Woodman et al., 2007) (Figura 17)



**Figura 17** – A progressão da infecção por HPV para cancro cervical. Adaptado de Woodman et al. (2007)

#### **4.2.9. Esôfago de Barrett**

O esôfago de Barrett é uma doença na qual ocorre uma alteração metaplásica no epitélio pavimentoso estratificado do esôfago e é o precursor mais importante para o adenocarcinoma esofágico. Tem uma relevância particular em doentes com refluxo gastro-esofágico. (Modiano & Gerson, 2007)

Dada a associação da infecção por HPV com o cancro da orofaringe, coloca-se a hipótese do vírus estar associado com estas patologias do esôfago através da transmissão orogenital para o trato gastro-intestinal superior. No entanto, essa ligação ainda não é muito clara. Um dos estudos realizados demonstrou uma forte associação entre o esôfago de Barrett, o adenocarcinoma esofágico e os HPV de alto risco com transcrição ativa, mas o vírus apenas foi detetado numa minoria dos pacientes. (Rajendra et al., 2013) Existem outros estudos que apresentam resultados negativos quanto à presença do papilomavírus nestas lesões. Uma revisão sistemática da literatura realizada em 2017 concluiu que a prevalência do HPV nas patologias em questão é baixa, mas defende a necessidade de mais estudos com amostras adequadas e métodos de deteção altamente sensíveis. (Kunzmann et al., 2017)

#### **4.2.10. Carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço e a sua relação com o HPV**

O carcinoma das células escamosas, também designado como carcinoma espinocelular, é a neoplasia mais frequente da cavidade oral e da orofaringe e perfaz 90% de todos os cancros destas localizações.

A maioria dos cancros da cabeça e pescoço têm sido relacionados com fatores de risco já conhecidos, como o tabaco e o álcool. No entanto, a tendência que tem vindo a ser observada é de uma diminuição destes cancros associada à diminuição dos hábitos tabágicos. Em contrapartida, tem-se assistido a um aumento dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço associados com o papilomavírus humano, e o HPV demonstra ser assim o maior fator de risco para esta neoplasia.

A prevalência do carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço associado ao HPV é de 25,9%. Dentro destes, a maior prevalência é na orofaringe (35.6%), seguido da laringe (24%) e por fim da cavidade oral (23.5%). São carcinomas mais frequentemente encontrados na Ásia, particularmente no Japão e a menor

prevalência foi em África, segundo uma revisão sistemática realizada em 2013. (Ajila, Shetty, Babu, Shetty, & Hegde, 2015)

Existem diferenças entre os carcinomas das células escamosas HPV+ e HPV-. Os associados ao vírus do HPV ocorrem geralmente mais cedo (55-60 anos); o maior fator de risco é o comportamento sexual; há um envolvimento dos nódulos linfáticos mais precoce e é raro haver mutação no gene supressor de tumor p53, que repara erros no ciclo celular entre a fase G1 e S. Por este motivo, a sobrevida destes carcinomas é maior que nos HPV- e apresentam uma melhor resposta à quimioterapia e radiação. O tipo de HPV mais frequentemente associado com estes tumores é o 16.

Por outro lado, os carcinomas HPV negativos ocorrem em idades mais avançadas; os principais fatores de risco são o tabaco e o álcool, o que leva a crer que estes hábitos adotados ao longo da vida se manifestam mais tarde que em caso de infecção por papilomavírus; o envolvimento dos nódulos linfáticos ocorre numa fase mais avançada da doença e as mutações no p53 são muito frequentes, associando estes carcinomas a um prognóstico e sobrevida piores. (Huang, O'Sullivan, & Waldron, 2018)

É importante distinguir também entre os carcinomas na cavidade oral e na orofaringe. Enquanto que na orofaringe há uma associação clara e provada com o papilomavírus, bem como fatores de risco identificados e uma resposta terapêutica mais previsível, na cavidade oral essa associação ainda não está bem definida e mais estudos são requeridos. (Husain & Neyaz, 2017)

Sabe-se ainda que os casos de carcinoma das células escamosas da cavidade oral têm diminuído enquanto que na orofaringe têm aumentado. Esta tendência pode ser explicada pelo facto dos cancros da cavidade oral estarem mais associados com o tabaco e álcool, diminuindo com as mudanças nos comportamentos, e da orofaringe terem uma maior associação com a infecção por HPV que, como já foi explicado anteriormente, tem vindo a aumentar exponencialmente com o aumento de comportamentos sexuais como, por exemplo, o sexo oral ou o crescente número de parceiros sexuais. Outro fator a ter em conta é que os não fumadores têm 15 vezes mais hipóteses de desenvolver tumores relacionados com HPV que os fumadores, o que explica que mesmo com a diminuição dos hábitos tabágicos o número de carcinomas na orofaringe esteja a aumentar. (Denson, Janitz, Brame, & Campbell, 2016)

O estadiamento destes cancros é clínico e deve ser feita uma história clínica completa, exame objetivo com palpação e quaisquer exames auxiliares de diagnóstico

que sejam necessários, bem como uma análise histológica (biópsia). A classificação utilizada é a TNM da American Joint Committee on Cancer, 8ª edição. Esta edição introduziu um novo algoritmo para os câncros da orofaringe causados pelo HPV e para aqueles com outros fatores etiológicos. As tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 vão demonstrar o algoritmo para os câncros da orofaringe HPV+ e as tabelas 7, 8, 9 e 10 para o cancro oral. (Lydiatt et al., 2017)

**Tabela 2** – Categoria T clínica e patológica de cancro da orofaringe HPV+. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria T	Crítérios
T0	Tumor primário não identificado
T1	Tumor $\leq 2$ cm na sua dimensão maior
T2	Tumor $> 2$ cm mas $\leq 4$ cm na sua dimensão maior
T3	Tumor $> 4$ cm na sua dimensão maior ou que se estende à superfície lingual da epiglote
T4	Doença local moderadamente avançada; tumor invade a laringe, músculos extrínsecos da língua, pterigoideu medial, palato duro ou mandíbula ou para além disso

**Tabela 3** – Categoria N clínica de cancro da orofaringe HPV+. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria N	Crítérios
NX	Nódulos linfáticos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem metástases regionais nos nódulos
N1	Um ou mais nódulos ipsilaterais, $< 6$ cm
N2	Nódulos contralaterais ou bilaterais, $< 6$ cm
N3	Nódulo(s) $\geq 6$ cm

**Tabela 4** – Categoria N patológica de cancro da orofaringe HPV+. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria N	Crítérios
NX	Nódulos linfáticos regionais não podem ser avaliados
pN0	Sem metástases regionais nos nódulos
pN1	Metástases em 4 ou menos nódulos
pN2	Metástases em mais de 4 nódulos

**Tabela 5** – Estágio anatómico e grupos de prognóstico para agrupamento TNM clínico de cancro da orofaringe HPV+. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria T	Categoria N			
	N0	N1	N2	N3
T0	NA	I	II	III
T1	I	I	II	III
T2	I	I	II	III
T3	II	II	II	III
T4	III	III	III	III

<sup>a</sup>Qualquer M1 é estágio IV

**Tabela 6** – Estágio anatómico e grupos de prognóstico para agrupamento TNM patológico de cancro da orofaringe HPV+. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria T	Categoria N		
	N0	N1	N2
T0	NA	I	II
T1	I	I	II
T2	I	I	II
T3	II	II	III
T4	II	II	III

<sup>a</sup>Qualquer M1 é estágio IV

**Tabela 7** – Categoria T de cancro da cavidade oral. Adaptado de de Lydiatt et al. (2017)

Categoria T	CrITÉrios
TX	Tumor primário não pode ser avaliado
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor $\leq 2$ cm, profundidade de invasão (PDI) $\leq 5$ mm
T2	Tumor $\leq 2$ cm, PDI $> 5$ mm e $< 10$ mm ou tumor $> 2$ cm mas $\leq 4$ cm e PDI $\leq 10$ mm
T3	Tumor $> 4$ cm ou qualquer tumor com PDI $> 10$ mm
T4	Doença local moderadamente ou muito avançada
T4a	Doença local moderadamente avançada: tumor nos lábios invade osso cortical ou envolve nervo alveolar inferior, pavimento da boca, pele ou face (nariz, queixo); tumor da cavidade oral invade apenas estruturas adjacentes (através de osso cortical da mandíbula ou maxila, ou envolve o seio maxilar ou pele da face)
T4b	Doença local muito avançada: tumor invade espaço mastigatório, apófises pterigoides, base do crânio e/ou infiltra a artéria carótida interna

Nota: a erosão superficial isolada do osso/alvéolo dentário por tumor gengival não é suficiente para classificar um tumor como T4

**Tabela 8** – Categoria N patológica de nódulos linfáticos regionais. Adaptado de Lydiatt et al. (2017)

Categoria N	CrITÉrios
NX	Nódulos linfáticos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem metástases regionais nos nódulos
N1	Metástases em 1 nódulo ipsilateral, $\leq 3$ cm na sua maior dimensão e EEN-negativa
N2	Metástases em 1 nódulo ipsilateral, $\leq 3$ cm na sua maior dimensão e EEN-positiva; ou $> 3$ cm mas $< 6$ cm e EEN-negativa; ou metástases em múltiplos nódulos ipsilaterais, nenhum $> 6$ cm e EEN-negativa; ou metástases em nódulos bilaterais ou contralaterais, nenhum $> 6$ cm e EEN-negativa
N2a	Metástases em 1 nódulo ipsilateral ou contralateral $\leq 3$ cm e EEN-positiva; ou metástases em 1 nódulo ipsilateral $> 3$ cm mas $< 6$ cm e EEN-negativa
N2b	Metástases em múltiplos nódulos ipsilaterais, nenhum $> 6$ cm e EEN-negativa
N2c	Metástases em nódulos bilaterais ou contralaterais, nenhum $> 6$ cm e EEN-negativa
N3	Metástases num nódulo $> 6$ cm e EEN-negativa; ou metástases em 1 nódulo ipsilateral $> 3$ cm e EEN-positiva; ou metástases em múltiplos nódulos ipsilaterais, contralaterais ou bilaterais com qualquer EEN-positiva
N3a	Metástases num nódulo $> 6$ cm e EEN-negativa
N3b	Metástases em 1 nódulo ipsilateral $> 3$ cm e EEN-positiva; ou metástases em múltiplos nódulos ipsilaterais, contralaterais ou bilaterais com qualquer EEN-positiva

EEN – extensão extranodal

**Tabela 9** – Categoria M para metástases à distância. Adaptado de International Agency for Research on Cancer (2018)

**M - Metástases à distância**

MX	Metástases à distância não podem ser avaliadas
M0	Sem metástases à distância
M1	Com metástases à distância

**Tabela 10** – Grupos de estadiamento. Adaptado de International Agency for Research on Cancer (2018)

**Grupos de estadiamento**

Estágio 0	Tis	N0	M0
Estágio I	T1	N0	M0
Estágio II	T2	N0	M0
Estágio III	T1, T2	N1	M0
	T3	N0, N1	M0
Estágio IV-A	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0
Estágio IV-B	Any T	N3	M0
	T4b	Any N	M0
Estágio IV-C	Any T	Any N	M1

#### 4.2.10.1. Tratamento para carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço

Os tratamentos para estes cancros diferem pela fase em que os mesmos são diagnosticados. Quando o carcinoma é descoberto nas fases iniciais da doença, ou seja, estágios I e II, a opção de tratamento preferida é a cirurgia excisional do tumor, com esvaziamento ganglionar cervical sempre que indicado. A radioterapia (RT) também é uma opção a considerar, em particular se o tumor for de difícil acesso e dificulte a excisão cirúrgica. (Iglesias Docampo et al., 2018)

Nos casos mais avançados, em que o estadiamento se encontra nos níveis III, IV-A e IV-B, deve-se impor uma abordagem multidisciplinar. Os tumores dividem-se assim em 2 grupos: **operáveis** e **não operáveis**. Não há uma definição universal que defina um tumor como não operável, mas devem ser tidos em conta critérios anatómicos como o envolvimento da base do crânio, vértebras cervicais, plexo braquial e nasofaringe, entre outros. Se o tumor for **operável** (estágios III e IV-A), existem três



opções de tratamento: cirurgia com RT ou quimio-radioterapia (QRt) adjuvante, esta última no caso de haver invasão extracapsular do nódulo linfático ou margens afetadas. Como segunda opção, QRt para doentes que não são candidatos ou recusam cirurgia e bio-radioterapia com cetuximab para aqueles que tenham alguma contra-indicação em relação ao agente quimioterápico usado, normalmente a cisplatina. A última opção é quimioterapia (QT) seguida de tratamento radical com cirurgia, RT ou QRt. (Iglesias Docampo et al., 2018)

No caso de o tumor ser **não operável** (estágio IV-B), pode ser feita QT de indução seguida de tratamento locoregional, com QRt ou RT + cetuximab. Esta opção é particularmente válida em doentes que requerem uma resposta rápida do tratamento e tenham um risco acrescido de desenvolver metástases à distância. Outra via de tratamento é a QRt concomitante com três doses semanais de cisplatina, que apresenta melhores resultados no controlo locoregional e maior taxa de sobrevida do que a RT isoladamente. No caso de contra-indicação da cisplatina, deve ser considerada RT + cetuximab, que mais uma vez apresenta menor toxicidade, maior controlo locoregional e melhor sobrevida que apenas a RT. (Iglesias Docampo et al., 2018)

Se houver recidiva da doença ou formação de metástases, deve-se avaliar a possibilidade de se realizar cirurgia ou re-irradiação. Quando tal não é possível, são adotadas a QT paliativa como primeira linha e a imunoterapia como segunda linha de tratamento. (Iglesias Docampo et al., 2018)

## **5. PREVENÇÃO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS**

Dadas as mudanças do panorama epidemiológico das infecções por HPV, com um aumento considerável devido às alterações dos hábitos sexuais, em especial nas gerações mais jovens, tornou-se imperativa a criação de estratégias de prevenção da infecção. (Syrjanen et al., 2012) Assim, as campanhas até agora pensadas têm como pontos principais o rastreio e a imunização, dado que as possibilidades de atuação são mais bem sucedidas numa fase inicial. Existem três formas de prevenção: a primária, a secundária e a terciária. As duas primeiras são as que assumem um papel importante na redução da incidência das infecções por papilomavírus e na mortalidade e morbidade das patologias a ele associadas. (Tota et al., 2011)

### **5.1. Prevenção primária**

A prevenção primária engloba uma série de estratégias destinadas a reduzir a exposição a fatores de risco para a infecção. Esta prevenção passa por campanhas de sensibilização e consultas especializadas para a cessação tabágica, sensibilização para o uso de preservativo em todas as relações sexuais e uma escolha seletiva do número de parceiros sexuais, bem como a circuncisão no caso dos homens. É importante também informar a população que a primeira relação sexual ou uma gravidez a termo em idades muito jovens constituem fatores de risco acrescido para contração de uma infecção potencialmente cancerígena, assim como uma utilização duradoura de contraceptivos orais com hormonas combinadas. Algumas vitaminas e antioxidantes, como a vitamina A e E, demonstraram ser uma ajuda na redução do risco de infecção por HPV, bem como da sua persistência e progressão. O gold standard atualmente é a imunização por vacinação profilática contra alguns dos tipos de HPV, que demonstra ser o método de prevenção mais eficaz. (Harper & Demars, 2014)

### **5.2. Prevenção secundária**

A prevenção secundária inclui os programas de rastreio, que permitem a deteção precoce e diagnóstico de lesões pré-malignas antes da presença de sintomas. No caso do cancro do colo do útero, que foi o impulsionador da criação destas estratégias, o rastreio passa pelo teste do Papanicolau, que consiste numa citologia. Este teste é realizado há

cerca de 50 anos e contribuiu para uma redução massiva do número de cancro cervicais nos países desenvolvidos, que incluem o Papanicolau nos respetivos sistemas de saúde nacionais, em consultas como a de Planeamento Familiar, e permitem assim que todas as mulheres tenham acesso (gratuito na maioria dos países) ao teste. (Tota et al., 2011)

Outra forma de prevenção secundária consiste nos rastreios recorrendo aos métodos de deteção de DNA viral do HPV (referidos anteriormente nesta dissertação). Estes testes permitem detetar lesões pré-cancerígenas associadas ao papilomavírus noutras localizações, como a cavidade oral. Perspetiva-se que possam vir a substituir o Papanicolau de futuro, dado que apresentam maior sensibilidade na deteção de lesões e estão menos sujeitos a erro humano. No entanto, de momento, e dados os custos associados, esta não é ainda uma opção economicamente viável. Os testes de DNA viral também servirão como método que permita monitorizar a eficácia da vacinação profilática, bem como a duração da proteção que a mesma fornece e avaliação da proteção cruzada. (Tota et al., 2011)

O maior problema desta forma de prevenção passa pelo facto de não haver campanhas eficientes em vigor nos países em vias de desenvolvimento, ou na maioria destes países não haver mesmo quaisquer campanhas, facto que se deve à falta de recursos financeiros. Tendo em conta que se trata de um problema de saúde global, é imprescindível o auxílio dos países desenvolvidos, de organizações humanitárias e de doações por parte dos fabricantes das vacinas e dos testes a esta causa. (Franco et al., 2012)

### **5.3. Prevenção terciária**

A última forma de prevenção centra-se em prevenir ou controlar a morbilidade causada pela terapia realizada para o cancro, envolvendo o apoio psicológico prestado aos doentes e familiares e tentando também prevenir a recidiva da doença. É importante a realização de um follow up personalizado para cada doente, com a aplicação de testes periódicos que possam prever o regresso da doença. Recentemente foram criados testes aos biomarcadores salivares e sanguíneos promissores com esta finalidade, sendo uma área da medicina em franco desenvolvimento. (Mirghani, Jung, & Fakhry, 2017)

## **6. TERAPÊUTICA**

Atualmente, a prevenção da infecção por HPV é melhor que as opções de tratamento disponíveis, dado que não há cura e é impossível prever quem espontaneamente eliminará a infecção e quem não o fará. (Hathaway, 2012) A escolha da terapêutica para os indivíduos cujo sistema imunitário não consegue eliminar o vírus dependem de vários fatores, como a localização e o tamanho das lesões, o tempo de evolução, o tipo de HPV envolvido, o estado imunitário do doente e a sua preferência, bem como o custo associado. Os métodos terapêuticos podem-se classificar como farmacológicos, cirúrgicos, imuno-modulação e antioxidantes. (International Agency for Research on Cancer, 2007)

### **6.1. Terapêutica farmacológica**

A terapêutica farmacológica é aplicada topicamente sobre as lesões externas e inclui os agentes Podofilina, Podofilotoxina e Ácido Tricloroacético, cuja ação se destina à destruição de verrugas genitais, e o agente 5-Fluoroacil, utilizado no tratamento de lesões multifocais e extensas e que atua destruindo os tecidos ao interferir com a síntese de RNA e DNA. Todos estes agentes citotóxicos podem ser aplicados pelo doente e apenas o Ácido Tricloroacético pode ser utilizado na gravidez, dado que é o único que não tem absorção sistémica. (International Agency for Research on Cancer, 2007)

### **6.2. Terapêutica cirúrgica**

A terapêutica cirúrgica deve ser realizada por um profissional de saúde e compreende as técnicas de excisão cirúrgica tradicional, ablação a laser, crioterapia e eletrocoagulação. Este método terapêutico é utilizado em caso de lesões muito extensas e cabe ao médico decidir quais os casos que necessitam de uma intervenção cirúrgica. (Hathaway, 2012)

### 6.3. Terapêutica de imuno-modulação

A imuno-modulação utiliza o agente Imiquimod, que estimula as interferências e a produção de fatores de necrose tumoral e tem demonstrado que potencia a imunidade do hospedeiro em combater as infecções com HPV de alto risco. Está indicado para aplicação tópica nas lesões externas pelo paciente. Outro agente imuno-modelador é o Interferão, que tem ação antiviral direta e potencia o sistema imunitário. No entanto, não é utilizado como terapêutica de primeira linha dado que tem de ser administrado por via injetável e produz efeitos secundários sistêmicos consideráveis, além de ser um método mais oneroso. (Hathaway, 2012; International Agency for Research on Cancer, 2007)

### 6.4. Terapêutica antioxidante

Mais recentemente, tem-se investigado o potencial de agentes antioxidantes na terapêutica de cancro, com ênfase nos polifenóis encontrados na dieta. Três agentes em particular, a epigallocatequina-3-galato (EGCG) encontrada no chá verde, a curcumina do açafrão-da-índia e o resveratrol das uvas têm revelado resultados promissores em bloquear a carcinogénese e inibir o crescimento de tumores, tanto em modelos *in vitro* como *in vivo*. Demonstraram uma inibição da proliferação de células cancerígenas HPV positivas através da indução da apoptose, inibição do crescimento e da síntese de DNA viral e modulação das vias de transdução de sinal, sendo portanto capazes de atuar em diversos estágios da cascata de transformação celular promovida pela infeção do papilomavírus. (Di Domenico, Foppoli, Coccia, & Perluigi, 2012) Outra ação importante dos antioxidantes é a sua capacidade de diminuir o stress oxidativo, que tem um papel considerável na patogénese dos cancros. Os agentes antioxidantes previnem os danos celulares ao reagirem com os radicais livres, reduzindo os danos infringidos ao DNA que resultam na iniciação de malignidade. (Jiang, Xiao, Khan, & Xue, 2013)

Diversos estudos mostram um enorme potencial nesta forma terapêutica e tendo em conta que cada polifenol tem uma ação sobre constituintes celulares específicos, o uso sinérgico destes agentes pode favorecer o seu efeito anti-carcinogénico. É uma área que necessita de mais investigação mas bastante promissora. (Di Domenico et al., 2012)

Normalmente, a terapêutica para as infeções é mista e inclui mais do que um método, não havendo apenas uma opção de tratamento. Cabe ao médico a decisão de escolher o plano de tratamento que melhor se adequa ao seu doente. O objetivo da terapêutica é controlar a doença através da destruição dos tecidos lesionados, mas nenhuma atualmente consegue eliminar o vírus. É importante também manter um follow up dos doentes, visto as recidivas serem comuns. (Sociedade Portuguesa de Ginecologia - Secção Portuguesa de Colposcopia & e Patologia Cervico-vulvovaginal, 2014)

No caso de lesões provocadas pelo papilomavírus humano que progridem para a malignidade, o protocolo terapêutico é específico para cada neoplasia e tem em conta, como referido anteriormente nesta dissertação, o estadiamento da doença no momento do diagnóstico. Nestes casos, as opções de tratamento passam pela cirurgia, radioterapia, quimioterapia e quimio-radioterapia. (Stern et al., 2012)

A vacinação até agora desenvolvida é profilática, não tendo portanto a capacidade de curar infeções já existentes, apenas preveni-las. Este facto vem reforçar a importância de uma prevenção primária e secundária bem estruturada e eficaz a nível global. (International Agency for Research on Cancer, 2007)

## 7. VACINAÇÃO

Nos últimos anos, com toda a descoberta acerca do papilomavírus humano, do seu genoma e carcinogénese tornou-se de extrema importância o investimento na prevenção da infeção. Dado que, até à data, não existem métodos eficazes para prevenir as verrugas cutâneas e restantes lesões infecciosas além da ausência de qualquer contacto, que se traduz em abstinência sexual por ser uma doença sexualmente transmissível, e se tratar de um problema global, a vacinação toma especial relevância. (Markowitz et al., 2014)

Foram então desenvolvidas três vacinas profiláticas até ao momento: a vacina **quadrivalente** (Gardasil®) foi a primeira, aprovada pela FDA em 2006, com uma proteção contra os HPV de alto risco oncogénico 16 e 18, que causam cerca de 70% dos cancro cervicais e 90-95% dos cancro da orofaringe HPV+, e os tipos de baixo risco 6 e 11, responsáveis por 90% das verrugas genitais. A esta seguiu-se a vacina **bivalente** (Cervarix®) contra os HPV-16 e 18, sendo ambas vacinas de primeira geração. Mais recentemente surgiu uma nova vacina de segunda geração **nonavalente** (Gardasil 9®), que além de oferecer proteção para os mesmos vírus da vacina quadrivalente, foi-lhe acrescentada mais cinco tipos: 31, 33, 45, 52 e 58. Estes vírus são frequentemente encontrados no cancro do colo do útero, bem como alguns no cancro anal e vulvar. (Douglas R Lowy, 2016)

As vacinas profiláticas são normalmente produzidas a partir de partículas virais atenuadas ou mesmo inativadas, com uma alta taxa de sucesso para outros vírus, como o da poliomielite. No entanto, esta estratégia não pode ser adotada para o vírus do HPV por duas razões: a dificuldade de crescimento do vírus em culturas laboratoriais, que impede a produção do mesmo em larga escala e o facto do genoma viral conter oncogenes, que torna a possibilidade dos viriões atenuados ou inativados provocarem carcinogénese demasiado elevada para ser considerada uma opção viável. É importante ter em conta também que estas vacinas são desenvolvidas para administração em indivíduos jovens e saudáveis. Assim sendo, foi necessário desenvolver outra estratégia.

As vacinas para o papilomavírus são então recombinantes. Baseiam-se em *virus-like particles* (VLP), produzidas através da principal proteína do capsídeo L1 e purificadas por cromatografia em coluna. As VLP podem ser produzidas numa variedade de células e os primeiros desenvolvimentos foram feitos em células de inseto infetadas pelo baculovírus e na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Dado que são

produzidas a partir de uma única proteína viral, não são infecciosas nem oncogénicas, apesar de serem morfológicamente similares aos vírus. O facto das VLP não terem ácidos nucleicos torna-as muito seguras pois não induzem a replicação do vírus no organismo. Outra grande vantagem destas partículas é a sua capacidade de induzirem anticorpos neutralizantes em quantidade suficiente para impedir uma infeção. (Schiller et al., 2018)

### **7.1. Vacina Quadrivalente (Gardasil®)**

A vacina quadrivalente, como referido anteriormente, foi a primeira a ser aprovada em 2006 pela FDA nos EUA e pela European Medicines Agency (EMA), no mesmo ano. Foi desenvolvida pela farmacêutica Merck & Co., Inc. e tem ação contra os HPV-6, 11, 16 e 18. (Braaten & Laufer, 2008) As suas VLP são produzidas na levedura *Saccharomyces cerevisiae* e o adjuvante da Gardasil® é o sulfato de hidroxifosfato de alumínio. (Schiller et al., 2018) Inicialmente o grupo alvo de vacinação eram mulheres e raparigas dos 9 aos 26 anos, para prevenção do cancro cervical, vulvar e vaginal e de verrugas genitais, mas em 2009 a FDA aprovou a sua administração a homens com as mesmas idades, dada a ação preventiva contra verrugas genitais também se estender ao sexo masculino. Em 2011 a vacina foi aprovada como meio de prevenção de cancro anal para ambos os sexos, na faixa etária referida anteriormente. (Douglas R Lowy, 2016) As vacinas devem ser administradas intramuscularmente em 3 doses distintas, num protocolo de 0, 2 e 6 meses. (Schiller et al., 2018) Em Fevereiro de 2014 a EMA aprovou um protocolo de 2 doses, aos 0 e 6 meses, que atualmente é utilizado na Europa em indivíduos de ambos os sexos, dos 9 aos 13 anos e antes do início da atividade sexual. (Douglas R Lowy, 2016)

Historicamente é extremamente importante, pois é a segunda vacina de prevenção de um cancro humano desenvolvida, sendo que a primeira foi a da Hepatite B. (Plotkin & Plotkin, 2013)

### **7.2. Vacina Bivalente (Cervarix®)**

A vacina bivalente foi a segunda vacina de prevenção para o HPV desenvolvida, aprovada pela EMA em 2007 para distribuição na Europa e pela FDA somente em



2009. Tem ação contra os HPV de alto risco 16 e 18 e pertence à farmacêutica GlaxoSmithKline. As VLP são produzidas em células de insetos infectadas por baculovírus recombinantes e o adjuvante desta vacina é o AS04, que combina hidróxido de alumínio com o lípido A 3-O-desacetilo-4'-monofosforilo. A sua finalidade é a prevenção de cancro do colo do útero e neoplasias cervicais nas mulheres dos 9 aos 25 anos, não tendo aplicação no sexo masculino. (Douglas R Lowy, 2016) O protocolo de vacinação nos EUA e alguns países é de 3 doses de injeções intramusculares aos 0, 1 e 6 meses. (Schiller et al., 2018) A EMA aprovou para a Europa, em Dezembro de 2013, um protocolo de 2 doses, aos 0 e 6 meses para raparigas dos 9 aos 14 anos. Tal como a vacina anterior, deve ser administrada antes do início da atividade sexual. (Douglas R Lowy, 2016)

### 7.3. Vacina Nonavalente (Gardasil 9®)

A vacina nonavalente, de segunda geração, é a mais recente. Foi desenvolvida pela Merck & Co., Inc., tal como a Gardasil®, e tem ação contra os HPV-6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58, sendo que os últimos 5 tipos só existem nesta vacina e são encontrados em cerca de 20% dos cancros cervicais. Recebeu aprovação da FDA em 2014 e da EMA em 2015. (Douglas R Lowy, 2016) As VLP da Gardasil 9® são produzidas na *Saccharomyces cerevisiae* e o adjuvante, tal como na Gardasil® original, é o sulfato de hidroxifosfato de alumínio. A vacina é aplicada na prevenção dos cancros cervical, vaginal, vulvar, anal e peniano de indivíduos de ambos os sexos entre os 9 e os 26 anos. Esta vacina, tal como as outras, é administrada por via intramuscular em 3 doses aos 0, 2 e 6 meses, nos EUA e alguns outros países. (Schiller et al., 2018) Em Outubro de 2016 a EMA aprovou o regime de 2 doses aos 0 e 6 meses para a Europa, para crianças e adolescentes dos 9 aos 14 anos, mais uma vez *a priori* do início da atividade sexual. (EMA, 2016) Esta vacina apresenta uma eficácia de 90% na prevenção dos cancros do colo do útero, vaginais, vulvares e anais, que é a mais alta até agora. (Douglas R Lowy, 2016)

Os ensaios realizados sobre as três vacinas têm demonstrado uma excelente eficácia das mesmas, que apresentam um alto perfil de segurança, proteção específica adequada contra as infeções e são altamente imunogénicas. (Brotherton & Ogilvie, 2015)

Relativamente aos efeitos adversos, a vacina Cervarix® registou alguns efeitos ligeiros como dor, inchaço e vermelhidão no local da administração, bem como dores de cabeça e febre, entre outros, que se resolvem espontaneamente. As vacinas Gardasil® e Gardasil 9® apresentaram efeitos semelhantes no local da injeção, se bem que em maior quantidade na Gardasil 9® (90.7% contra 84.9% da quadrivalente). No entanto, estes resultados já eram espectáveis visto a vacina nonavalente conter uma maior quantidade de ajuvante e antígenos que a quadrivalente. (Joura et al., 2015)

#### **7.4. Vacinação no sexo masculino**

Apesar do cancro do colo do útero ter sido o impulsionador para a criação de vacinas e a sua administração a raparigas, como referido nesta dissertação existem outros cancros com associação ao HPV que afetam ambos os sexos e apresentam mortalidade e morbilidade consideráveis. Nos EUA, por exemplo, a incidência de cancro da orofaringe HPV+ nos homens excede a de cancro cervical nas mulheres neste momento. Estima-se ainda que em 2020 a incidência de cancro da orofaringe com relação ao papilomavírus vá ser superior ao cancro cervical a uma escala global.

Um grande problema enfrentado é que ao contrário do cancro cervical, para o qual existem rastreios eficazes, neste momento o cancro da orofaringe não tem nenhum teste que permita a deteção de lesões pré-malignas ou cancro em fase inicial. Isto significa que a maioria dos pacientes é diagnosticado com a doença em estado avançado e com envolvimento regional dos nódulos linfáticos. O mesmo acontece com o cancro anal, em que os pacientes são diagnosticados com doença local avançada ou mesmo metastática. (Schmeler & Sturgis, 2016)

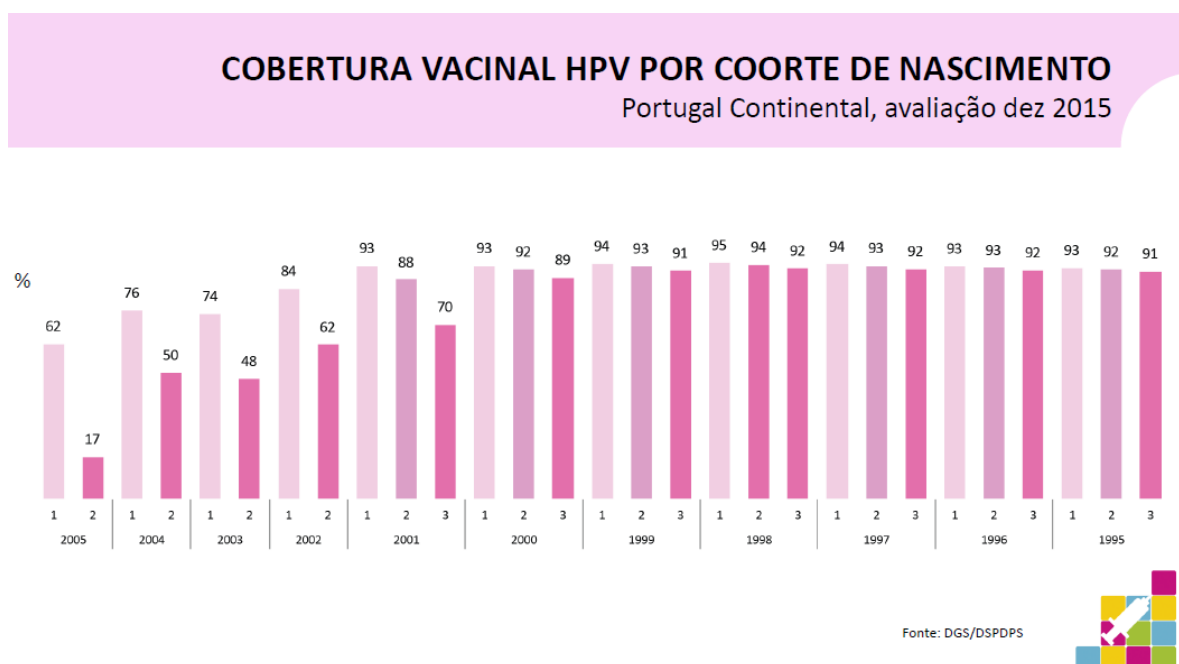
Está provado que o HPV é um vírus que infeta indiscriminadamente homens e mulheres, e a evidência atual demonstra assim a importância de vacinar os rapazes adolescentes antes de se tornarem sexualmente ativos, para poder maximizar o benefício que estas vacinas representam para a população. (Zur Hausen, Mammas, & Spandidos, 2017) Ao vacinar rapazes e raparigas, vai ser possível diminuir as altas taxas de transmissão da infeção por HPV e aumentar a imunidade de grupo, prevenindo os cancros e patologias malignas com associação a este vírus. Neste momento 20 países já implementaram a vacinação neutra de género, mas o objetivo é que isto se verifique em todos. (Schmeler & Sturgis, 2016)

### 7.5. Portugal – Plano Nacional de Vacinação

A vacina quadrivalente contra o papilomavírus humano foi introduzida no Plano Nacional de Vacinação (PNV) em 2008 e nesse ano visou as raparigas com 13 anos de idade, nascidas a partir de 1995. No ano seguinte e até 2011 decorreu uma campanha nacional para vacinar as raparigas com 17 anos que nasceram entre 1992 e 1994. O protocolo utilizado foi o de 3 doses aos 0, 2 e 6 meses. Após o término da campanha, o PNV vacinava raparigas de 13 anos com a vacina quadrivalente, num esquema de 3 doses. (Leça, Calé, Castelão, Valente, & Fernandes, 2014) No entanto, em 2014, a firma detentora da Autorização de Introdução no Mercado (AIM) da Gardasil® lançou alterações à posologia recomendada, pelo que o PNV adotou o esquema de 2 doses (0 e 6 meses) para raparigas dos 10 aos 13 anos. (Direção-Geral da Saúde, 2014)

Até 2017 em Portugal apenas eram comercializadas duas vacinas: a Gardasil® e a Cervarix®. No entanto, em 2017 o nosso país adotou a vacina nonavalente Gardasil 9® para o PNV, em substituição da vacina quadrivalente. Foi também adotada uma proteção mais precoce, sendo a idade-chave para a vacinação aos 10 anos em vez do intervalo 10-13 anos. O protocolo utilizado é o de 2 doses aos 0 e 6 meses. Neste momento, Portugal apenas contempla no PNV a vacinação gratuita de raparigas. (Direção-Geral da Saúde, 2017)

Inicialmente, a adesão à vacinação contra o vírus do papiloma humano foi extremamente alta, ultrapassando o objetivo de imunização de 85% dos coortes de nascimento. No entanto, recentemente tem havido um declínio na taxa de vacinação bastante acentuado, verificando-se mesmo uma percentagem que toma a primeira dose e não volta para a segunda. (Direção-Geral da Saúde, 2017) (Figura 18)



**Figura 18** – Cobertura vacinal contra o HPV por coorte de nascimento em Portugal, avaliado em Dezembro de 2015. Adaptado de Direção-Geral da Saúde (2017)

## 7.6. Perspetivas futuras

A vacinação até agora disponível é, como referido, profilática e não tem a capacidade de eliminar infeções pré-existentes pois apenas estimula a resposta imunológica humoral. (Chabeda et al., 2018) Apesar da disponibilidade das vacinas profiláticas, as infeções por HPV continuam extremamente comuns em todo o mundo. Assim sendo, a criação de vacinas terapêuticas seria uma mais valia e teria um impacto considerável na mortalidade e morbilidade das infeções. (Hancock, Hellner, & Dorrell, 2018) Neste momento já existem algumas vacinas-candidatas a serem estudadas em ensaios clínicos, com resultados bastante promissores. As vacinas terapêuticas vão estimular uma resposta imune mediada por células para tratar infeções estabelecidas e malignidades. Os oncogenes virais E6 e E7 são os alvos ideais para esta terapêutica dado o seu papel na perturbação do ciclo celular e na expressão que apresentam nos tecidos pré-malignos e malignos. Já foram desenhadas várias estratégias para o desenvolvimento destas vacinas, incluindo vetores vivos, ácidos nucleicos, péptidos, vacinas baseadas em proteínas e vacinas baseadas em células, bem como abordagens que combinam mais que uma estratégia.

Com o conhecimento disponível acerca do ciclo de vida do vírus, os mecanismos moleculares de infecção, a carcinogénese e os mecanismos de resposta imune, uma vacina terapêutica é um objetivo que será alcançado num futuro próximo, em princípio numa questão de poucos anos. No entanto, e apesar do sucesso dos ensaios clínicos, permanece a questão da vacinação ser um método oneroso e, em muitos casos, inacessível aos países mais pobres, que têm as maiores incidências de infecção. Uma opção a ser estudada é o uso de plantas para a produção das vacinas em vez dos métodos tradicionais que utilizam células de insetos e fermentação microbiana. Uma grande vantagem das vacinas baseadas em plantas é o potencial de não precisarem de ser armazenadas em frigorífico, que é um entrave considerável para a vacinação nos países em desenvolvimento por falta de infraestruturas apropriadas. Os antígenos seriam bioencapsulados no tecido da planta escolhida e as vacinas podiam ser de administração oral ou armazenadas em sementes que permanecem estáveis à temperatura ambiente, sendo administradas sem degradação do medicamento. De momento não há nenhuma terapêutica do género em fase de ensaio clínico, mas é sem dúvida uma opção que mostra potencial. (Chabeda et al., 2018)

### **7.7. Validade e adequação da vacinação para a infeção oral e da orofaringe**

Neste momento, o único cancro oral reconhecidamente causado pelo HPV é o da orofaringe, apesar de haver uma forte correlação do vírus com mais cancros da cavidade oral. (Bansal et al., 2016)

A associação entre o papilomavírus e o cancro da orofaringe foi descoberta recentemente, pelo que as vacinas profiláticas existentes não têm ainda indicação formal pela FDA e restantes autoridades para a prevenção deste cancro. No entanto, sabe-se que os cancros da orofaringe HPV+ foram precedidos por uma infeção que persistiu, principalmente pelo HPV-16, embora também se possam encontrar nestes cancros os tipos 18, 31, 33, 35 e 45. (M. Gillison, 2014) Sabe-se também que as vacinas reduzem a prevalência dos papilomavírus de alto risco nas mucosas genitais, pelo que é espetável que façam o mesmo na mucosa oral e da orofaringe, reduzindo a incidência da infeção nestas localizações. (Kreimer, 2014) Um grande problema posto pelo cancro da orofaringe é que por ser maioritariamente diagnosticado em fases avançadas, não é fácil definir a história natural do mesmo. A localização das lesões no epitélio das criptas amigdalinas não as torna acessíveis a inspeção visual ou citologia, justificando assim o

diagnóstico tardio. Para as vacinas profiláticas serem aprovadas como método de prevenção deste cancro, é necessário conhecer todos os passos da evolução da infecção na orofaringe para cancro e definir um objetivo para a realização de ensaios clínicos que validem a aplicação profilática das vacinas. O objetivo principal das vacinas para o HPV neste momento é a prevenção da doença (lesões pré-malignas e malignas). No entanto, o tempo decorrido entre a infecção da orofaringe e o estabelecimento de um tumor maligno é demasiado longo para que este seja um objetivo viável. Assim, o objetivo de prevenir uma infecção persistente poderá ser o ideal, dado que as infecções persistentes são mais comuns e se podem determinar num intervalo de tempo mais curto. (Guo, Eisele, & Fakhry, 2016)

Relativamente à cavidade oral, existem estudos realizados em animais com evidência biológica promissora para a eficácia das vacinas na prevenção da infecção oral. Um estudo realizado em cães demonstrou que tanto a vacinação como a transferência passiva de anticorpos foram eficazes na prevenção desta infecção. Outros estudos demonstraram que o IgG e sIgA (IgA secretora), que são os anticorpos principais presentes na cavidade oral nos indivíduos infetados com HPV, também estavam presentes nos animais vacinados, o que torna possível a hipótese da vacinação estimular a imunidade contra a infecção oral. (Guo et al., 2016) Um estudo publicado este ano, realizado nos EUA, analisou a incidência de infecção na cavidade oral em jovens adultos de ambos os sexos que foram vacinados entre 2011 e 2014. Concluíram que houve de facto uma redução da prevalência da infecção oral nos indivíduos vacinados, mas as taxas de vacinação baixas, principalmente nos homens, fizeram com que o efeito sentido na população fosse bastante modesto. (Chaturvedi et al., 2018)

Um relatório recente da National Cancer Institute–International Agency for Research on Cancer dos EUA aprovou a realização de ensaios clínicos que pressuponham como objetivo principal das vacinas a prevenção da infecção persistente da cavidade oral por HPV-16. Estes ensaios poderão confirmar a hipótese que a vacinação profilática também contribui para a prevenção da infecção oral e da orofaringe, mudando assim o panorama global e reforçando a importância de vacinar jovens do sexo masculino. (Chaturvedi et al., 2018) Neste caso, novas questões se colocarão: serão as doses administradas adequadas à prevenção destas infecções ou precisarão de ser ajustadas? Continuarão as idades de vacinação a ser apropriadas ou, dado que estas infecções ocorrem numa idade mais tardia, serão necessários reforços da

vacina? Deverão ser incluídos nas vacinas tipos de HPV específicos ao cancro da orofaringe? (Guo et al., 2016)

### **III – CONCLUSÃO**

O papilomavírus humano é um tema bastante atual, tendo ganho destaque para a população em geral através da relação causal com o cancro do colo do útero e da alta incidência desta doença, que representa um problema de saúde global. Sabemos hoje que o vírus também está relacionado com outros cancros humanos que afetam homens e mulheres indiscriminadamente, o que reforça a importância da prevenção das infeções por HPV. Atualmente, o melhor método disponível para tal é a vacinação profilática. No entanto, um grande entrave deste método é o facto do mesmo ser maioritariamente aplicado ao sexo feminino na grande maioria dos países aderentes, havendo uma enorme percentagem de jovens rapazes não vacinados. Deve-se informar a população, os profissionais de saúde e as autoridades políticas da área da saúde de cada país desta falha e reforçar a importância que a vacinação tem para os dois géneros. A própria FDA já reconheceu os benefícios que as vacinas representam para ambos os sexos, dado estar provado que além do cancro do colo do útero também previne neoplasias anais e verrugas genitais, e aconselhou a que haja uma vacinação neutra de género.

Outro problema enfrentado são as baixas taxas de adesão à vacinação, que não alcançam os mínimos requeridos para que haja imunidade de grupo. A melhor forma de colmatar esta falha é informando a população, por exemplo através de campanhas nacionais, da divulgação do tema pela comunicação social, abordando o assunto nas escolas para as crianças e adolescentes nas disciplinas competentes, entre outros. Deve-se tentar ao máximo acabar com a ideia que alguns pais têm de que vacinar os seus filhos acarreta mais riscos que benefícios, pois sabe-se que a vacinação foi o único método de erradicação de algumas doenças que há décadas eram mortais.

Um tema bastante pertinente abordado nesta dissertação é a infeção oral e da orofaringe. Foi comprovado que o cancro da orofaringe também pode estar associado ao HPV, ao contrário do que se pensava há uns anos que os únicos culpados seriam o tabaco e o álcool. No entanto, de momento não existe evidência que a vacinação tenha aplicação nestas infeções. É assim de extrema importância que se realizem ensaios clínicos que comprovem ou refutem esta hipótese, de modo a ajustar a vacinação a um nível global. Se confirmada a aplicação, este seria um argumento de peso para estender a cobertura da vacinação para o sexo masculino. Relativamente à associação do HPV com o cancro oral, sabe-se que existe uma forte correlação entre os dois. No entanto, os



trâmites desta ligação ainda não estão bem estabelecidos, pelo que considero fundamental que se realizem mais estudos sobre o assunto, que permitam a compreensão de toda a história natural da doença.

A prevenção também compreende outros fatores para além da vacinação. É importante que a população tenha conhecimento que a infeção por HPV é das doenças sexualmente transmissíveis mais frequentes, e que o uso de preservativo, apesar de não proteger a 100%, é extremamente importante. O Médico Dentista também tem um papel fundamental no que respeita às lesões da cavidade oral, pois cabe-lhe saber diagnosticar corretamente as lesões potencialmente malignas, bem como tratá-las, por exemplo através da biópsia e posterior envio para análise histopatológica. No caso de detetar lesões cancerígenas, deve também encaminhar o doente para os locais apropriados para que receba tratamento o mais depressa possível.

De futuro, espera-se que o maior número possível de países adira ao programa de vacinação contra o HPV e que vacine tanto rapazes como raparigas. Nos países mais pobres é sem dúvida fundamental o apoio das farmacêuticas e de organizações humanitárias que se disponibilizem para fornecer as vacinas e administrá-las. As vacinas terapêuticas também são uma forte aposta para um tratamento mais eficaz, bem como o desenvolvimento de outras formas terapêuticas mais acessíveis a todas as populações.

#### IV – BIBLIOGRAFIA

- Abreu, A. L. P., Souza, R. P., Gimenes, F., & Consolaro, M. E. L. (2012). A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virology Journal*, 9, 262. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-262>
- Ajila, V., Shetty, H., Babu, S., Shetty, V., & Hegde, S. (2015). Human Papilloma Virus Associated Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Journal of Sexually Transmitted Diseases*, 2015, 791024. <https://doi.org/10.1155/2015/791024>
- Avon, S.-L., & Klieb, H. B. E. (2012). Oral Soft-Tissue Biopsy: An Overview. *J Can Dent Assoc*, 78(75). Retrieved from <http://www.jcda.ca/sites/default/files/c75/c75.pdf>
- Bansal, A., Singh, M. P., & Rai, B. (2016). Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem. *International Journal of Applied & Basic Medical Research*, 6(2), 84–89. <https://doi.org/10.4103/2229-516X.179027>
- Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2015). Papillomaviruses. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (8th ed., pp. 794–1806). Elsevier Inc.
- Bernard, H.-U., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., & de Villiers, E.-M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 401(1), 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>
- Böcking, A., Sproll, C., Stöcklein, N., Naujoks, C., Depprich, R., Kübler, N. R., & Handschel, J. (2011). Role of Brush Biopsy and DNA Cytometry for Prevention, Diagnosis, Therapy, and Followup Care of Oral Cancer. *Journal of Oncology*, 2011, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2011/875959>
- Bologna-Molina, R., & Castañeda-Castaneira, R., & Molina-Frechero, N., & Pérez-Rodríguez, E. (2006). Virus del papilloma humano y su asociación com cáncer bucal. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 44 (2), 147-154.
- Bottalico, D., Chen, Z., Dunne, A., Ostoloza, J., McKinney, S., Sun, C., Burk, R. D. (2011). The oral cavity contains abundant known and novel human papillomaviruses from the Betapapillomavirus and Gammapapillomavirus genera. *The Journal of Infectious Diseases*, 204(5), 787–792. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir383>
- Braaten, K. P., & Laufer, M. R. (2008). Human Papillomavirus (HPV), HPV-Related Disease, and the HPV Vaccine. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 1(1), 2–10. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18701931>

- Brianti, P., De Flammoneis, E., & Mercuri, S. R. (2017). Review of HPV-related diseases and cancers. *The New Microbiologica*, 40(2), 80–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28368072>
- Brotherton, J. M. L., & Ogilvie, G. S. (2015). Current status of human papillomavirus vaccination. *Current Opinion in Oncology*, 27(5), 399–404. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000211>
- Bruni, L., Diaz, M., Castellsagué, X., Ferrer, E., Bosch, F. X., & de Sanjosé, S. (2010). Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(12), 1789–1799. <https://doi.org/10.1086/657321>
- Carcopino, X., Henry, M., Olive, D., Boubli, L., & Tamalet, C. (2011). Détection et quantification des infections génitales à papillomavirus humains : conséquences virologiques, épidémiologiques et cliniques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 41(2), 68–79. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2010.07.013>
- Castellsagué, X. (2008). Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic Oncology*, 110(3 Suppl 2), S4-7. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.07.045>
- Castro, T. P. P. G., & Bussoloti Filho, I. (2006). Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 72(2), 272–282. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16951865>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017). CDC - How Many Cancers Are Linked with HPV Each Year? Retrieved August 1, 2018, from <https://www.cdc.gov/cancer/hpv/statistics/cases.htm>
- Chabeda, A., Yanez, R. J. R., Lamprecht, R., Meyers, A. E., Rybicki, E. P., & Hitzeroth, I. I. (2018). Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Research (Amsterdam, Netherlands)*, 5, 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2017.12.006>
- Chai, R. C., Lambie, D., Verma, M., & Punyadeera, C. (2015). Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Medicine*, 4(4), 596–607. <https://doi.org/10.1002/cam4.424>
- Chaturvedi, A. K., Graubard, B. I., Broutian, T., Pickard, R. K. L., Tong, Z.-Y., Xiao, W., Gillison, M. L. (2018). Effect of Prophylactic Human Papillomavirus (HPV) Vaccination on Oral HPV Infections Among Young Adults in the United States. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(3), 262–267. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.75.0141>
- D'Abramo, C. M., & Archambault, J. (2011). Small Molecule Inhibitors of Human Papillomavirus Protein - Protein Interactions. *The Open Virology Journal*, 5(1), 80–95. <https://doi.org/10.2174/1874357901105010080>

- de Martel, C., Plummer, M., Vignat, J., & Franceschi, S. (2017). Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal of Cancer*, 141(4), 664–670. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>
- de Villiers, E.-M. (2013). Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*, 445(1–2), 2–10. <https://doi.org/10.1016/J.VIROL.2013.04.023>
- de Villiers, E.-M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H.-U., & zur Hausen, H. (2004). Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324(1), 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.03.033>
- Denson, L., Janitz, A. E., Brame, L. S., & Campbell, J. E. (2016). Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer: Changing Trends in Incidence in the United States and Oklahoma. *The Journal of the Oklahoma State Medical Association*, 109(7–8), 339–345. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27885303>
- Di Domenico, F., Foppoli, C., Coccia, R., & Perluigi, M. (2012). Antioxidants in cervical cancer: Chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 737–747. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.10.005>
- Direção-Geral da Saúde. (29 de Setembro de 2014 atualizada a 01 de Outubro 2014). Circular Normativa nº 016/2014. *PROGRAMA NACIONAL DE VACINAÇÃO*. Portugal.
- Direção-Geral da Saúde. (16 de Dezembro de 2016 atualizada a 31 de Janeiro de 2017). Circular Normativa nº 016/2016. *NOVO PROGRAMA NACIONAL DE VACINAÇÃO – PNV 2017*. Portugal.
- Doorbar, J. (2005). The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology*, 32, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.12.006>
- Doorbar, J., Egawa, N., Griffin, H., Kranjec, C., & Murakami, I. (2015). Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*, 25, 2–23. <https://doi.org/10.1002/rmv.1822>
- Douglas, J. M. (2016). Papillomavirus. In *Goldman-Cecil Medicine* (25th ed., p. 2219–2223.e3). Elsevier Inc.
- D’Souza, G., Cullen, K., Bowie, J., Thorpe, R., & Fakhry, C. (2014). Differences in oral sexual behaviors by gender, age, and race explain observed differences in prevalence of oral human papillomavirus infection. *PloS One*, 9(1), e86023. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086023>
- EMA. (2016). *Gardasil 9, human papillomavirus 9-valent vaccine*. London, United Kingdom. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/pt\\_PT/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/003852/WC500189114.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/003852/WC500189114.pdf)

- Feller, L., Khammissa, R. A., Wood, N. H., & Lemmer, J. (2009). Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. *Infectious Agents and Cancer*, 4, 16. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-4-16>
- Franco, E. L., de Sanjosé, S., Broker, T. R., Stanley, M. A., Chevarie-Davis, M., Isidean, S. D., & Schiffman, M. (2012). Human papillomavirus and cancer prevention: gaps in knowledge and prospects for research, policy, and advocacy. *Vaccine*, 30 Suppl 5, F175-82. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.092>
- Gaurab Karki. (2017). Polymerase chain reaction (PCR): Principle, procedure or steps, types and application -. Retrieved August 7, 2018, from <http://www.onlinebiologynotes.com/polymerase-chain-reaction-pcr-principle-procedure-steps-types-application/>
- Gillison, M. (2014). *HPV vaccines and potential prevention of HPV-positive head and neck cancer. Primary End-points for Prophylactic HPV Vaccine Trials*. Lyon, France. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304970/>
- Gillison, M. L., Alemany, L., Snijders, P. J. F., Chaturvedi, A., Steinberg, B. M., Schwartz, S., & Castellsagué, X. (2012). Human Papillomavirus and Diseases of the Upper Airway: Head and Neck Cancer and Respiratory Papillomatosis. *Vaccine*, 30, F34–F54. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.070>
- Graham, S. V. (2010). Human papillomavirus: gene expression, regulation and prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future Microbiology*, 5(10), 1493–1506. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.107>
- Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, et al. An Introduction to Genetic Analysis. 7th edition. New York: W. H. Freeman; 2000. Using cloned DNA. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22040/>
- Guil, P., Estévez, D., & Ceballos, L. (2015). Hiperplasia epitelial focal en la mucosa labial. Una lesión poco frecuente. Presentación de un caso clínico. *Revista Médica Electrónica*, 3. Retrieved from <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/hiperplasia-epitelial-focal-caso-clinico/>
- Guo, T., Eisele, D. W., & Fakhry, C. (2016). The potential impact of prophylactic human papillomavirus vaccination on oropharyngeal cancer. *Cancer*, 122(15), 2313–2323. <https://doi.org/10.1002/cncr.29992>
- Hancock, G., Hellner, K., & Dorrell, L. (2018). Therapeutic HPV vaccines. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 47, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.09.008>
- Harper, D. M., & Demars, L. R. (2014). Primary Strategies for HPV Infection and Cervical Cancer Prevention. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 57(2), 256–278. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000027>
- Hathaway, J. K. (2012). HPV: diagnosis, prevention, and treatment. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 55(3), 671–680. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31825caa36>

- Huang, S. H., O'Sullivan, B., & Waldron, J. (2018). The Current State of Biological and Clinical Implications of Human Papillomavirus-Related Oropharyngeal Cancer. *Seminars in Radiation Oncology*, 28(1), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2017.08.007>
- Husain, N., & Neyaz, A. (2017). Human papillomavirus associated head and neck squamous cell carcinoma: Controversies and new concepts. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 7(3), 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.08.003>
- Iglesias Docampo, L. C., Arrazubi Arrula, V., Baste Rotllan, N., Carral Maseda, A., Cirauqui Cirauqui, B., Escobar, Y., ... Cruz Hernández, J. J. (2018). SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2017). *Clinical & Translational Oncology: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 20(1), 75–83. <https://doi.org/10.1007/s12094-017-1776-1>
- International Agency for Research on Cancer. (2007). *Human Papillomaviruses* (Volume 90). Lyon, France: World Health Organization. Retrieved from <http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Evaluation-Of-Carcinogenic-Risks-To-Humans/Human-Papillomaviruses-2007>
- International Agency for Research on Cancer. (2018). TNM classification of carcinomas of the oral cavity. Retrieved August 20, 2018, from <http://screening.iarc.fr/atlasoralclassiftnm.php>
- Jemal, A., Simard, E. P., Dorell, C., Noone, A.-M., Markowitz, L. E., Kohler, B., Edwards, B. K. (2013). Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975–2009, Featuring the Burden and Trends in Human Papillomavirus (HPV)–Associated Cancers and HPV Vaccination Coverage Levels. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 105(3), 175–201. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs491>
- Jiang, B., Xiao, S., Khan, M. A., & Xue, M. (2013). Defective antioxidant systems in cervical cancer. *Tumor Biology*, 34(4), 2003–2009. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0804-1>
- Joura, E. A., Giuliano, A. R., Iversen, O.-E., Bouchard, C., Mao, C., Mehlsen, J., Broad Spectrum HPV Vaccine Study. (2015). A 9-Valent HPV Vaccine against Infection and Intraepithelial Neoplasia in Women. *New England Journal of Medicine*, 372(8), 711–723. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1405044>
- Kreimer, A. R. (2014). Prospects for prevention of HPV-driven oropharynx cancer. *Oral Oncology*, 50(6), 555–559. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.06.007>
- Kunzmann, A. T., Graham, S., McShane, C. M., Doyle, J., Tommasino, M., Johnston, B., Anderson, L. A. (2017). The prevalence of viral agents in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 29(7), 817–825. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000868>

- Lazarczyk, M., Cassonnet, P., Pons, C., Jacob, Y., & Favre, M. (2009). The EVER Proteins as a Natural Barrier against Papillomaviruses: a New Insight into the Pathogenesis of Human Papillomavirus Infections. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73(2), 348–370. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00033-08>
- Leça, A., Calé, E., Castelão, I., Valente, P., & Fernandes, T. (2014). A vacinação contra o vírus do papiloma humano (HPV). *Boletim Vacinação - Edição Especial*, 1–4.
- Letian, T., & Tianyu, Z. (2010). Cellular receptor binding and entry of human papillomavirus. *Virology Journal*, 7, 2. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-2>
- Leto, M. das G. P., Júnior, G. F. dos S., Porro, A. M., & Tomimori, J. (2011). *Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. An Bras Dermatol* (Vol. 86). Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/abd/v86n2/v86n2a14.pdf>
- Longworth, M. S., & Laimins, L. A. (2004). Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 68(2), 362–372. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.362-372.2004>
- Lowy, D. R., & Schiller, J. T. (2006). Prophylactic human papillomavirus vaccines. *Journal of Clinical Investigation*, 116(5), 1167–1173. <https://doi.org/10.1172/JCI28607>
- Lowy, D. R. (2016). HPV vaccination to prevent cervical cancer and other HPV-associated disease: from basic science to effective interventions. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(1), 5–11. <https://doi.org/10.1172/JCI85446>
- Lydiatt, W. M., Patel, S. G., O'Sullivan, B., Brandwein, M. S., Ridge, J. A., Migliacci, J. C., ... Shah, J. P. (2017). Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67(2), 122–137. <https://doi.org/10.3322/caac.21389>
- Markowitz, L. E., Dunne, E. F., Saraiya, M., Chesson, H. W., Curtis, C. R., Gee, J., Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2014). Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports*, 63(RR-05), 1–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25167164>
- McBride, A. A. (2017). Oncogenic human papillomaviruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 372(1732). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0273>
- Medina, M.L., Medina, M.G., & Merino, L.A.. (2010). Consideraciones actuales sobre la presencia de papilomavirus humano en la cavidad oral. *Avances en Odontoestomatología*, 26(2), 71-80. Recuperado en 05 de agosto de 2018, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S021312852010000200002&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021312852010000200002&lng=es&tlng=es).

- Messadi, D. V. (2013). Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions. *International Journal of Oral Science*, 5(2), 59–65. <https://doi.org/10.1038/ijos.2013.24>
- Mirghani, H., Amen, F., Moreau, F., Guigay, J., Ferchiou, M., Melkane, A. E., Guily, S. (2014). Human papilloma virus testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: What the clinician should know. *Oral Oncology*, 50, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.10.008>
- Mirghani, H., Jung, A. C., & Fakhry, C. (2017). Primary, secondary and tertiary prevention of human papillomavirus-driven head and neck cancers. *European Journal of Cancer*, 78, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.03.021>
- Modiano, N., & Gerson, L. B. (2007). Barrett's esophagus: Incidence, etiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(6), 1035–1145. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18516262>
- Morshed, K., Polz-Gruska, D., Szymański, M., & Polz-Dacewicz, M. (2014). Human Papillomavirus (HPV) – Structure, epidemiology and pathogenesis. *Otolaryngologia Polska*, 68(5), 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.otpol.2014.06.001>
- Nour, N. M. (2009). Cervical cancer: a preventable death. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 2(4), 240–244. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20111660>
- Patel, T., Morrison, L. K., Rady, P., & Tying, S. (2010). Epidermodysplasia verruciformis and susceptibility to HPV. *Disease Markers*, 29, 199–206. <https://doi.org/10.3233/DMA-2010-0733>
- Percinoto, A. C. C., Danelon, M., Crivelini, M. M., Cunha, R. F., & Percinoto, C. (2014). Condyloma acuminata in the tongue and palate of a sexually abused child: a case report. *BMC Research Notes*, 7, 467. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-467>
- Plotkin, S. L., & Plotkin, S. A. (2013). A short history of vaccination. *Vaccines*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00017-3>
- Rajendra, S., Wang, B., Snow, E. T., Sharma, P., Pavey, D., Merrett, N., Robertson, I. K. (2013). Transcriptionally Active Human Papillomavirus Is Strongly Associated With Barrett's Dysplasia and Esophageal Adenocarcinoma. *The American Journal of Gastroenterology*, 108(7), 1082–1093. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.94>
- Ratan Z, Zaman S, Mehta V, et al. (June 09, 2017) Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. *Cureus* 9(6): e1325. doi:10.7759/cureus.1325
- Ronell E.; Castañeda-Castaneira, Raúl E.; Molina-Frechero, Nelly; Pérez-Rodríguez, E. (2006). *Virus del papiloma humano y su asociación con cáncer bucal*. *Revista*



- Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* (Vol. 44). Oficina de Bibliotecas y Divulgación de la Jefatura de los Servicios de Enseñanza e Investigación. Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/4577/457745532008/>
- Schiller, J. T., Markowitz, L. E., Hildesheim, A., & Lowy, D. R. (2018). Human Papillomavirus Vaccines. *Plotkin's Vaccines*, 430–455.e10. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35761-6.00030-4>
- Schmeler, K. M., & Sturgis, E. M. (2016). Expanding the benefits of HPV vaccination to boys and men. *The Lancet*, 387(10030), 1798–1799. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30314-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30314-2)
- Skyridgeperio. (n.d.). Oral Cancer Screening | Everett Sky Ridge Periodontics and Implants, Everett, WA | Dr. Graig Erickson. Retrieved August 6, 2018, from <http://www.skyridgeperio.com/oral-cancer-screening.html>
- Sociedade Portuguesa de Ginecologia - Secção Portuguesa de Colposcopia, & e Patologia Cervico-vulvovaginal. (2014). *Consenso sobre infecção por HPV e neoplasia intraepitelial do colo vulva e vagina*. Coimbra. Retrieved from <http://www.spGINECologia.pt/uploads/Livro-de-Consenso-prova-3-FINAL.pdf>
- Souto, R., Pedro Borgo Falhari, J., & Divino da Cruz, A. (2005). *O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias* *The Human papillomavirus: a factor related with the formation of neoplasias*. *Revista Brasileira de Cancerologia* (Vol. 51). Retrieved from [http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_51/v02/pdf/revisao2.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_51/v02/pdf/revisao2.pdf)
- Stern, P. L., van der Burg, S. H., Hampson, I. N., Broker, T. R., Fiander, A., Lacey, C. J., ... Einstein, M. H. (2012). Therapy of human papillomavirus-related disease. *Vaccine*, 30 Suppl 5(0 5), F71-82. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.091>
- Syrjänen, S. M. (1987). Human Papillomavirus Infections in the Oral Cavity. In *Papillomaviruses and Human Disease* (pp. 104–137). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-71097-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-71097-1_4)
- Syrjänen, S., Lodi, G., von Bültzingslöwen, I., Aliko, A., Arduino, P., Campisi, G., Jontell, M. (2011). Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Diseases*, 17, 58–72. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01792.x>
- Syrjanen, S., Termine, N., Capra, G., Paderni, C., Panzarella, V., & Campisi, G. (2012). Oral HPV infection: current strategies for prevention and therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 18(34), 5452–5469. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22632393>
- Tang, Y., Yang, C., Guo, Z., Fu, Y., Yu, X., Liu, B., Pang, Q. (2017). P16 protein expression as a useful predictive biomarker for neoadjuvant chemotherapy response in patients with high-grade osteosarcoma: A systematic meta-analysis under guideline of PRISMA. *Medicine*, 96(19), e6714. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006714>

- Termine, N., Giovannelli, L., Rodolico, V., Matranga, D., Pannone, G., & Campisi, G. (2012). Biopsy vs. brushing: Comparison of two sampling methods for the detection of HPV-DNA in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncology*, 48(9), 870–875. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2012.03.002>
- Tota, J. E., Chevarie-Davis, M., Richardson, L. A., deVries, M., & Franco, E. L. (2011). Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: Implications for prevention strategies. *Preventive Medicine*, 53, S12–S21. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.08.017>
- Vlahovic, T. C., & Khan, M. T. (2016). The Human Papillomavirus and Its Role in Plantar Warts. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*, 33(3), 337–353. <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2016.02.003>
- Woodman, C. B. J., Collins, S. I., & Young, L. S. (2007). The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews. Cancer*, 7(1), 11–22. <https://doi.org/10.1038/nrc2050>
- Woods, R., O'Regan, E. M., Kennedy, S., Martin, C., O'Leary, J. J., & Timon, C. (2014). Role of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma: A review. *World Journal of Clinical Cases*, 2(6), 172–193. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v2.i6.172>
- World Health Organization. (2018). Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. Retrieved July 31, 2018, from [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervical-cancer](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer)
- Zheng, Z.-M., & Baker, C. C. (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 11, 2286–2302. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16720315>
- Zur Hausen, H., Mammas, I. N., & Spandidos, D. A. (2017). HPV vaccination in boys: Determining the clinical relevance of this strategy. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(4), 3327–3328. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5005>